

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

EFEITO DA TEMPERATURA DE COZIMENTO
SOBRE AS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DO
QUEIJO DE COALHO

Priscila Lourenzon Mamede

Zootecnista

Prof. Dra. Walkiria Hanada Viotto

Orientadora

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de
Mestre em Tecnologia de Alimentos

Campinas – SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

Mamede, Priscila Lourenzon

M31e Efeito da temperatura de cozimento sobre as propriedades
tecnológicas do queijo coalho / Priscila Lourenzon Mamede. --
Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientador: Walkiria Hanada Viotto

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Queijo de coalho. 2. Temperatura de cozimento. 3.
Propriedades funcionais. 4. *Enterococcus*. 5. Diacetil. I. Viotto,
Wlakiria Hanada. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(cars-fea)

Título em inglês: Effect of cooking temperature on the technological properties of “queijo de coalho”

Palavras-chave em inglês (Keywords): “Coalho” cheese, Cooking temperature, Functional properties, *Enterococcus*, Diacetyl

Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Walkiria Hanada Viotto

Antonio Nonato de Oliveira

Arnaldo Yoshiteru Kuaye

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

PRISCILA LOURENZON MAMEDE

**EFEITO DA TEMPERATURA DE COZIMENTO SOBRE AS
PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DO QUEIJO DE COALHO**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do
Título de Mestre em Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Walkiria Hanada Viotto

Universidade Estadual de Campinas - Orientadora

Prof. Dr. Arnaldo Yoshiteru Kuaye

Universidade Estadual de Campinas - Membro

Prof. Dr. Antonio Nonato de Oliveira

Universidade Federal de Goiás - Membro

Dra. Leila Maria Spadoti

Instituto de Tecnologia de Alimentos - Membro

Profa. Dra. Marta Maria Marquezan Augusto

Universidade Federal do Rio Grande - Membro

*“Sei que meu trabalho
é uma gota no oceano,
mas sem ele
o oceano seria menor.”*

Madre Teresa de Calcutá

*Dedico este trabalho
à minha doce mãe e ao meu querido pai.*

AGRADECIMENTOS

À Deus Pai, por estar comigo em cada instante da minha vida, por tornar meu caminho mais leve e pleno, por Seus ensinamentos e por Seu Infinito Amor. Obrigada, Jesus! Obrigada Mãezinha do Céu!

Ao meu pai Hélio, por suas palavras e conselhos que deram firmeza aos meus passos, por ser sempre meu amigo e principalmente, por seu exemplo de honestidade e justiça. Te amo, meu pai!

À minha mãe Célia, por saber sempre o que se passa dentro de mim, por seu colo acolhedor, por sua força e tão grande amor, que me ajudam a vencer cada desafio. Te amo, minha mãe!

Ao meu noivo Fernando, pelo carinho, compreensão e amor, por estar sempre ao meu lado e por trazer tantas alegrias ao meu coração. “Unum cor et anima una”. Te amo, meu amor!

À minha orientadora Walkiria, por todo seu apoio desde que cheguei na FEA, pela amizade, dedicação e amparo, para que o resultado final do trabalho tivesse qualidade. Muito obrigada!

Ao Prof. Arnaldo, por todo auxílio e por dividir comigo sua experiência com os microorganismos, em especial os caros enterococos.

Aos membros da banca examinadora, Arnaldo, Nonato, Leila e Marta, pelas correções e sugestões, por se mostrarem sempre receptivos durante as nossas comunicações. Obrigada!

À CAPES, pela bolsa de pesquisa concedida ao longo do curso.

À Profa. Lúcia, do IQ, pela disposição em me ajudar a entender o método para determinação do diacetil. Sua ajuda foi fundamental!

Ao Prof. Ademir e à Tati, do IMECC, por toda a ajuda e auxílio com a análise estatística dos resultados. Obrigada!

À querida Profa. Bel, da Unesp - Botucatu, por tão grande amizade e por me iniciar neste caminho da pesquisa na área de leite e derivados. Muito obrigada!

À Ju Perri, por colaborar comigo neste trabalho, pela mão nos dias de processo e pelos resultados compartilhados.

À Bete, do laboratório de leite, por ser sempre atenciosa, pela paciência, amizade e por toda a ajuda com as análises. Obrigada!

À Renata, do laboratório de instrumentação, por sua paciência, amizade, confiança e principalmente pelos ensinamentos.

À Larissinha, pela sua fiel amizade, por seus santos ouvidinhos, que sempre me escutam, por suas palavras amigas e por se fazer tão especial na minha vida. Te amo, maninha!

À Manuzinha, por estar sempre com o coração perto de mim, por manter firme nossa amizade e por tantas vezes que me ajudou a enfrentar as dificuldades. Te amo, amiga!

À Meirinha, por tanto carinho sempre, por ser minha amiga-irmã de longa data, por sua presença no meu coração e por toda sua ajuda em tantos momentos. Te amo, minha amiga!

Ao William, ao Paulinho e a toda Fraternidade Toca de Assis, pelo ombro amigo, pelas alegrias compartilhadas e principalmente pela fé. “Amigo fiel, refúgio poderoso, quem o descobriu encontrou um tesouro.”

Às amigas Rê Perez, Thati, Veri, Lígia, Clarice, Mônica, Carol, pela amizade, carinho e pela ajuda nos dias de processamento e de análise sensorial. Sem vocês não seria possível. Muito obrigada!

Aos estagiários e alunos de iniciação, Thati, Flávia, Rafa, Thiago, Luana, Fernanda, pela companhia nos dias de trabalho, pelos momentos de descontração e por toda a força na hora do “mãos à obra”. Obrigada!

Aos companheiros de laboratório, Camila, Atílio, Pri, Bárbara, Milena, Marianas, Ana Pati, Clá, Marcília, Rê, Kizzy, Jack, Keila, Gui, Marina, pela descontração, amizade e apoio.

Aos funcionários, técnicos e professores da FEA e do DTA, Adauto, Cosme, Marlene, Tânia, Karina, Jaime, Roberto, Ana, Pri Hoff, Homero e tantos outros que estiveram sempre dispostos quando precisava de uma colaboração.

Aos amigos da Comunidade Santa Isabel e das pastorais, Odair, Ana Cris, Vô Vitorio, Maria Nídia, Eni, Ana Alice, Amanda, Gui, Sônia, crianças, pela torcida e por todas as orações!

E a todos aqueles que participaram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse realizado com afinco, dedicação e amor...

...agradeço carinhosamente!

Priscila.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xv
RESUMO GERAL	xvii
GENERAL SUMMARY	xviii

INTRODUÇÃO	1
-------------------	----------

CAPÍTULO I

PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS E SENSORIAIS DO QUEIJO DE COALHO. UMA REVISÃO.	3
---	----------

Resumo	4
Summary	5
1. Introdução	5
2. Processo de fabricação do queijo de coalho	7
3. Bactérias lácticas	8
3.1. Bactérias ácido-lácticas	8
3.2. <i>Enterococcus</i>	9
4. Mudanças durante armazenamento refrigerado	10
4.1. Produção de diacetil	11
4.2. Proteólise	14
5. Características funcionais	15
6. Aspectos sensoriais	16
Referências	17

CAPÍTULO II

EFEITO DA TEMPERATURA DE COZIMENTO NA COMPOSIÇÃO, PROTEÓLISE E FUNCIONALIDADE DO QUEIJO DE COALHO	23
Resumo	24

Summary	25
1. Introdução	25
2. Material e métodos	26
2.1. Fabricação do queijo de coalho	26
2.2. Amostragem	27
2.3. Composição do leite e queijo	28
2.4. Mudanças durante o armazenamento refrigerado	28
2.4.1. pH, acidez titulável e proteólise	28
2.4.2. Textura e funcionalidade do queijo	29
2.5. Delineamento experimental e análise estatística dos resultados	30
3. Resultados e discussão	31
3.1. Efeito da temperatura de cozimento na composição dos queijos	31
3.2. Evolução do pH e acidez titulável	32
3.3. Evolução da proteólise	33
3.4. Capacidade de derretimento e formação de óleo livre	35
3.5. Perfil de textura	38
3.6. Avaliação da cor	40
3.6.1. Antes do derretimento (<i>in natura</i>)	40
3.6.2. Após o derretimento	43
Conclusão	45
Agradecimentos	45
Referências	45

CAPÍTULO III

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE COZIMENTO NO DESENVOLVIMENTO DE <i>ENTEROCOCCUS</i> E NA PRODUÇÃO DE DIACETIL EM QUEIJO DE COALHO	48
Resumo	49
Summary	50
1. Introdução	50
2. Material e métodos	51

2.1. Fabricação do queijo de coalho	51
2.2. Amostragem	52
2.3. Composição do queijo	53
2.4. Análises microbiológicas	53
2.4.1. Preparo das amostras	53
2.4.2. Contagem de bactérias lácticas	54
2.4.3. Contagem de <i>Enterococcus</i>	54
2.5. Determinação de diacetil / acetoína	54
2.6. Delineamento experimental e análise estatística dos resultados	55
3. Resultados e discussão	55
3.1. Influência da temperatura de cozimento na composição dos queijos	55
3.2. Influência da temperatura de cozimento no desenvolvimento de <i>Enterococcus</i> e bactérias lácticas do queijo de coalho	56
3.2.1. Durante a fabricação	56
3.2.2. Durante o armazenamento	57
3.3. Produção de diacetil / acetoína	59
Conclusão	60
Agradecimentos	61
Referências	61

CAPÍTULO IV

INFLUÊNCIA DO COZIMENTO DA MASSA NA ACEITAÇÃO SENSORIAL DO QUEIJO DE COALHO GRELHADO	64
Resumo	65
Summary	65
1. Introdução	66
2. Material e métodos	67
2.1. Fabricação do queijo de coalho	67
2.2. Composição do queijo	69
2.3. Análise sensorial	69
2.4. Análise estatística	70

3. Resultados e discussão	72
3.1. Efeito da temperatura de cozimento da massa na composição do queijo	72
3.2. Avaliação sensorial	73
4. Conclusões	76
Agradecimentos	76
Referências	76
 CONSIDERAÇÕES FINAIS	
CONCLUSÃO GERAL	79

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1	Características que diferenciam os gêneros de bactérias ácido-láticas, com a forma de cocos, em produtos lácticos.	9
Tabela 2	Atividade proteolítica e produção de diacetil / acetoína de espécies de BAL isoladas de queijo Cebreiro.	13

CAPÍTULO II

Tabela 1	Definições físicas dos parâmetros da análise de perfil de textura.	29
Tabela 2	Composição média dos queijos, elaborados com diferentes temperaturas de cozimento, equivalentes a 40, 45 e 50°C.	31
Tabela 3	Quadrados médios e probabilidades para evolução do pH e da acidez titulável dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C.	32
Tabela 4	Quadrados médios e probabilidades para evolução da extensão (IEP) e profundidade (IPP) da proteólise dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C.	34
Tabela 5	Quadrados médios e probabilidades para capacidade de derretimento e formação de óleo livre dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C.	36
Tabela 6	Quadrados médios e probabilidades para os parâmetros dureza e mastigabilidade dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C.	38
Tabela 7	Quadrados médios e probabilidades para os parâmetros elasticidade e coesividade dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C.	39

Tabela 8	Quadrados médios e probabilidades para os parâmetros L^* , a^* e b^* da cor, antes do derretimento, dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C.	41
-----------------	---	-----------

Tabela 9	Quadrados médios e probabilidades para os parâmetros L^* , a^* e b^* da cor, após o derretimento, dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C.	43
-----------------	---	-----------

CAPÍTULO III

Tabela 1	Composição média dos queijos, elaborados com diferentes temperaturas de cozimento da massa, equivalentes a 40, 45 e 50°C.	56
-----------------	---	-----------

Tabela 2	Contagem média de <i>Enterococcus</i> e bactérias lácticas durante as etapas de fabricação do queijo de coalho.	57
-----------------	---	-----------

Tabela 3	Quadrados médios e probabilidades para contagem de enterococos e bactérias lácticas durante o armazenamento refrigerado a 4°C.	57
-----------------	--	-----------

Tabela 4	Quadrados médios e probabilidades para o teor de diacetil / acetoína, durante o armazenamento refrigerado a 4°C de queijo de coalho.	59
-----------------	--	-----------

CAPÍTULO IV

Tabela 1	Composição média dos queijos, elaborados com diferentes temperaturas de cozimento, equivalentes a 40, 45 e 50°C.	72
-----------------	--	-----------

Tabela 2	Médias obtidas para a aceitação de queijo de coalho grelhado.	74
-----------------	---	-----------

Tabela 3	Características sensoriais que os provadores mais gostaram e menos gostaram em relação aos atributos avaliados no queijo de coalho grelhado.	75
-----------------	--	-----------

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1** Metabolismo do citrato e produção de diacetil / acetoína por *Lactococcus lactis*. 12

CAPÍTULO II

- Figura 1** Evolução do pH e acidez titulável dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. 33
- Figura 2** Evolução da proteólise, em porcentagem de nitrogênio solúvel a pH 4,6 / nitrogênio total e de nitrogênio solúvel em TCA 12% / nitrogênio total, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. 35
- Figura 3** Evolução da capacidade de derretimento, em milímetros, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. 37
- Figura 4** Formação de óleo livre, em porcentagem de óleo livre / GBS, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. 37
- Figura 5** Acompanhamento do perfil de textura dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. 40
- Figura 6** Avaliação da cor, antes do derretimento, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. 42
- Figura 7** Avaliação da cor, após o derretimento, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. 44

CAPÍTULO III

- Figura 1** Evolução da contagem de *Enterococcus* dos queijos de coalho ao longo do armazenamento refrigerado a 4°C. 58

Figura 2	Evolução da contagem de bactérias lácticas dos queijos de coalho ao longo do armazenamento refrigerado a 4°C.	58
Figura 3	Evolução de teor de diacetil / acetoína dos queijos de coalho ao longo do armazenamento refrigerado a 4°C.	60

CAPÍTULO IV

Figura 1	Fluxograma do processo de fabricação do queijo de coalho.	68
Figura 2	Ficha de aceitação aplicada aos provadores.	71
Figura 3	Histograma de intenção de compra do queijo de coalho grelhado.	76

RESUMO GERAL

Queijo de coalho foi elaborado a partir de três diferentes temperaturas de cozimento da massa (40, 45 e 50°C). O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da temperatura de cozimento na composição, proteólise, funcionalidade e aceitação sensorial do queijo. O desenvolvimento dos enterococos e bactérias lácticas, durante a fabricação e armazenamento refrigerado do queijo, foi investigado. A produção de diacetil/acetoína foi acompanhada durante 60 dias de armazenamento refrigerado. Quanto maior a temperatura de cozimento, menor foi o teor de umidade e maior a porcentagem de proteína nos queijos. Além disso, o aumento da temperatura de cozimento resultou em queijos com menor profundidade da proteólise e com textura mais firme. A capacidade de derretimento e a formação de óleo livre do queijo não foi afetada pela temperatura de cozimento da massa. Ao longo do armazenamento refrigerado (90 dias) houve queda do pH, aumento da proteólise, diminuição da elasticidade e coesividade, e aparecimento de coloração amarronzada no queijo após o derretimento. Já o número de enterococos e a produção de diacetil/acetoína aumentaram significativamente com o tempo de armazenamento refrigerado dos queijos de coalho. O queijo elaborado com temperatura de cozimento de 50°C se destacou por apresentar maiores médias em todas as características sensoriais avaliadas (aparência, aroma, sabor, textura e intenção de compra), sendo o queijo preferido pelos 101 provadores.

Palavras-chave: queijo de coalho, cozimento da massa, armazenamento.

GENERAL SUMMARY

“Queijo de coalho” was made using three different curd cooking temperatures (40, 45 and 50°C). The objective of this study was to evaluate the effect of cooking temperature on the composition, proteolysis, functionality and sensory acceptance of this type of cheese. The development of enterococci and lactic bacteria during manufacture and refrigerated storage of the cheese was investigated. The production of diacetyl/acetoin was followed during 60 days of refrigerated storage. The higher the cooking temperature used, the lower the moisture content and the higher the percentage of protein in the cheeses. In addition, an increase in cooking temperature resulted in cheeses showing less proteolysis and with a firmer texture. The melting capacity and the formation of free oil by the cheeses were not affected by the curd cooking temperature. During refrigerated storage (90 days) there was a fall in pH, increase in proteolysis, decrease in springiness and cohesiveness and the appearance of a brownish color of the cheeses after melting. In addition, the number of enterococci and the production of diacetyl/acetoin increased significantly during refrigerated storage. The cheese manufactured using a cooking temperature of 50°C stood out from the others, showing higher mean scores for all the sensory characteristics evaluated (appearance, aroma, flavor, texture and buying intent), being the preferred cheese by the 101 judges.

Keywords: “queijo de coalho”, curd cooking, storage.

INTRODUÇÃO

O queijo de coalho para churrasco vem crescendo no Brasil, principalmente na região Sudeste. Este queijo deve apresentar sabor suave, aroma levemente ácido e amanteigado, textura “borrachenta” e baixa capacidade de derretimento, para que não escoe pela grelha no momento do preparo.

Porém, as exigências do mercado nem sempre são atendidas, visto que o queijo de coalho não possui etapas de fabricação padronizadas, o que resulta em um produto sem um padrão de qualidade. Sendo assim, o estudo e a otimização das variáveis de processo podem contribuir para a obtenção de um queijo padronizado, atendendo a expectativa do consumidor.

Uma das etapas de grande variação entre as indústrias é a temperatura de cozimento da massa, durante o processamento do queijo. O cozimento da massa pode afetar a composição e a estrutura do queijo, influenciando também na textura, no derretimento, assim como na viabilidade das bactérias lácticas que sobreviveram à pasteurização.

Os *Enterococcus*, bactérias altamente resistentes, fazem parte da microbiota láctica dos queijos de coalho artesanais e industrializados e supõe-se que sejam os principais responsáveis pelo aroma amanteigado, desejável nestes queijos. Como os enterococos se mantêm viáveis, após o cozimento da massa e ao longo do armazenamento do queijo, existe a possibilidade desses microrganismos serem responsáveis pela degradação do citrato presente no leite, em compostos aromáticos, como o diacetil, característico por seu aroma de manteiga.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a influência da temperatura de cozimento da massa:

- a) na composição do queijo de coalho e nas mudanças ao longo dos 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C como: pH, acidez, extensão e

profundidade da proteólise, textura, formação de óleo livre, capacidade de derretimento e cor;

- b) no comportamento das bactérias do gênero *Enterococcus* durante a fabricação e ao longo dos 90 dias de armazenamento e na produção de diacetil / acetoína durante 59 dias;
- c) na aceitação sensorial do queijo de coalho grelhado no 34º dia de armazenamento.

CAPÍTULO I

PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS E SENSORIAIS DO QUEIJO DE COALHO. UMA REVISÃO.

A ser submetido à revista “Brazilian Journal of Food Technology”

PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS E SENSORIAIS DO QUEIJO DE COALHO. UMA REVISÃO.

Technological and sensorial properties of “queijo de coalho”. A review.

Priscila Lourenzon Mamede¹; Walkiria Hanada Viotto^{1*}

¹ Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Rua Monteiro Lobato, 80, Cidade Universitária Zeferino Vaz, CP 6121, Campinas, SP, 13083-862. E-mail: walkiria@fea.unicamp.br

* A quem a correspondência deve ser enviada.

RESUMO

O consumo do queijo de coalho grelhado vem se expandindo no Brasil e as indústrias têm buscado a padronização do processo de fabricação, visando alcançar um padrão de qualidade, principalmente para que o queijo não derreta demasiadamente, a ponto de escorrer pela grelha. Uma das variáveis que afeta as propriedades físico-químicas e funcionais do queijo de coalho é o cozimento da massa. O binômio tempo/temperatura de cozimento pode interferir na sinérese, e como consequência, na umidade dos queijos. Diferenças no teor de umidade têm um impacto significativo na funcionalidade, podendo afetar também a extensão e profundidade da proteólise, ao longo do período de armazenamento. Além disso, determinada temperatura de cozimento da massa pode selecionar uma flora láctica resistente, como é o caso do *Enterococcus*. Apesar de poucos estudos, sabe-se que os enterococos estão presentes em uma variedade de queijos e que também atuam no metabolismo do citrato, produzindo compostos de aroma e sabor desejáveis. A literatura apresentada mostra a evolução das pesquisas a respeito das variáveis de processo, das propriedades tecnológicas e da microbiota láctica dos queijos, dando foco ao queijo de coalho.

Palavras-chave: queijo de coalho, fabricação, cozimento da massa, derretimento, proteólise, *Enterococcus*, aroma de manteiga.

SUMMARY

The consumption of grilled “queijo de coalho” has been expanding in Brazil, and the industries are searching to maintain a quality standard, mainly aiming to avoid excessive melting of the cheese, to the point that it drips from the grill. The curd cooking temperature is one of the factors affecting the physicochemical and functional properties of “queijo de coalho”. The time/temperature binomial for cooking can interfere with syneresis and hence with the cheese moisture content, and differences in moisture content can have a significant impact on functionality and can also affect the levels of proteolysis occurring during storage. In addition, a determined curd cooking temperature can select a resistant lactic flora, as in the case of *Enterococcus*. Despite few studies, it is known that the enterococci are present in a variety of cheeses and can also act in citrate metabolism, producing desirable aroma and flavor compounds. The literature presented shows the evolution of research concerning the process variables, the technological properties and the lactic flora of cheeses, focusing on “queijo de coalho”.

Keywords: “queijo de coalho”, manufacture, curd cooking, melting, proteolysis, *Enterococcus*, buttery aroma.

1. INTRODUÇÃO

O queijo de coalho é um dos produtos lácteos mais difundidos no Nordeste do Brasil. Em sua grande maioria é fabricado de forma caseira e artesanal, com tecnologia bem simples, transmitida através de gerações (BENEVIDES et al., 2000), principalmente nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco.

Ao contrário de sua forma simples de produção, a utilização do queijo de coalho é bastante variada, podendo ser consumido fresco, assado ou como ingrediente em diversos pratos regionais. Apesar de ser produzido há mais de um século, ainda hoje existe falta de padronização nas técnicas de elaboração do

queijo de coalho, o que acarreta em diferenças nas características físico-químicas do produto (CARVALHO, 2007).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos em vigor (BRASIL, 2001), o queijo de coalho é definido como aquele obtido por coagulação do leite por meio do coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas, comercializado normalmente com até dez dias de fabricação e estocado em temperatura média de 10 - 12°C. É classificado como um queijo de média a alta umidade, de massa semi-cozida (até 45°C), cozida (entre 45 e 55°C) ou massa crua (sem aquecimento), apresentando um teor de gordura nos sólidos totais (GST) variável entre 35 e 60%.

O queijo de coalho deve apresentar consistência elástica, textura compacta ou aberta com olhaduras mecânicas, cor branca amarelada uniforme, sabor brando, ligeiramente ácido e salgado, odor ligeiramente ácido de coalhada fresca, casca fina e não muito bem definida, formato e peso variáveis. O leite deve ser integral ou padronizado e obrigatoriamente pasteurizado (BRASIL, 2001).

A legislação brasileira, sobre queijo de coalho, contempla as variações regionais, sendo muito abrangente e pouco definida, permitindo que o produto chegue ao mercado sem um padrão de qualidade e com características sensoriais diversas. Por isso, a sua caracterização e identificação são ferramentas fundamentais, no sentido de auxiliar na publicação de um regulamento técnico de identidade e qualidade mais específico.

A expansão do queijo de coalho tem sido notória, assim como os estudos em torno desse produto. Devido ao aumento de sua popularidade, vem ganhando mercado em outros territórios do Brasil, como, por exemplo, o Sudeste. No Estado de São Paulo, o queijo de coalho tem sido comercializado na forma fracionada em espetos para churrasco, fabricados sempre a partir de leite pasteurizado e consumidos principalmente na forma grelhada.

Com o aumento do consumo deste queijo em espeto para churrasco, é altamente desejável que o produto apresente baixa capacidade de derretimento, baixa liberação de óleo e que desenvolva coloração característica amarronzada

com o tempo de grelha (PEREZ & VIOTTO, 2008). Práticas comuns no processo de fabricação podem inibir parcialmente o coagulante e o fermento láctico adicionado, afetando a atividade proteolítica, o teor de umidade e, conseqüentemente, a capacidade de derretimento, característica mais requerida pelo mercado consumidor e determinante na compra do produto.

2. PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO QUEIJO DE COALHO

O queijo de coalho é um produto que ainda não apresenta um processo padronizado de fabricação, por isso acaba se adequando à região e à forma de consumo adotada na mesma. No Nordeste, por exemplo, o queijo de coalho é destinado tanto ao consumo *in natura* como assado. Desta forma, o procedimento utilizado na produção do queijo nesta região deve garantir que o produto apresente as características esperadas de sabor e textura para o tipo de mercado consumidor.

No Estado de São Paulo, o queijo de coalho é comercializado exclusivamente sob a forma de espeto para churrasco. Assim, as indústrias produtoras devem adequar o processo de fabricação, para se enquadrar no perfil sensorial esperado, que seria o não escoamento pela grelha. Isso significa que a textura do queijo de coalho na região Sudeste é, na maioria das vezes, o atributo mais importante na decisão pela compra do produto.

Perez (2005) avaliou a metodologia de fabricação de sete indústrias produtoras de queijos de coalho comercializados na região de Campinas, SP. Os resultados obtidos mostraram grande diferença entre o tipo de tecnologia aplicada, sendo que as etapas de maior variação entre as indústrias foram o tratamento térmico do leite, a adição de fermento, o tipo de salga e a temperatura de cozimento da massa. A variação encontrada na temperatura de cozimento é bastante grande. O espectro de variação vai desde o não cozimento da massa até temperaturas de 40 a 50°C.

O impacto do cozimento da massa nas mudanças ao longo do armazenamento e nas propriedades funcionais do queijo depende principalmente

da estabilidade do coagulante utilizado durante o cozimento e da atividade da cultura láctica (YUN et al., 1993).

A temperatura de cozimento, além de afetar a composição, a proteólise e a textura do queijo, pode também selecionar a microbiota láctica, que resistiu ao tratamento térmico, podendo acentuar as características de sabor e aroma, que depois da textura, são os atributos mais observados pelo consumidor.

3. BACTÉRIAS LÁCTICAS

3.1. Bactérias ácido-lácticas

As bactérias ácido-lácticas (BAL) estão amplamente distribuídas na natureza, em particular no leite, e são também habitantes nos tratos digestivo, respiratório superior e urogenital inferior dos animais (HOVE et al., 1999). O grupo compreende 11 gêneros de bactérias Gram positivo e inclui bastonetes e cocos não esporulados, aeróbios, microaerófilos ou anaeróbios facultativos. A maioria destas bactérias é inativada a temperaturas superiores a 70°C (SALMINEN & VON WRIGHT, 1993).

As bactérias lácticas são muito importantes na produção de queijos, e normalmente são utilizadas como fermento láctico durante a fabricação, pois conferem várias características de sabor, aroma e textura ao produto final. Porém, durante a fabricação do queijo de coalho, muitas indústrias optam por não adicionar fermento, para controlar a atividade proteolítica das bactérias, evitando o derretimento excessivo do queijo quando grelhado. No entanto, parte da microbiota natural, conhecida como NSLAB (*Nonstarter Lactic Acid Bacteria*), resiste ao processo de fabricação, podendo contribuir para as características sensoriais do queijo.

Em pesquisas com amostras de queijo de coalho artesanal, Carvalho et al. (2005) observaram a predominância do gênero *Enterococcus* (60%), dentre o grupo de bactérias lácticas estudadas. Este perfil foi correlacionado com a possível seleção de bactérias resistentes a temperaturas elevadas promovidas pela etapa de cozimento da massa do queijo. A Tabela 1 apresenta as características que diferenciam as BAL entre si, comprovando a maior resistência do gênero

Enterococcus aos testes que foram aplicados, como o crescimento em alta concentração de sal (6,5%) e em pH extremo (4,4 - 9,6).

Tabela 1. Características que diferenciam os gêneros de bactérias ácido-láticas, com a forma de cocos, em produtos lácticos (HARRIGAN, 1998).

Testes	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>
Crescimento em:				
10°C	+	+	—	+
45°C	+	—	+	—
6,5% de NaCl	+	—	—	—
pH 9,6	+	—	—	—
pH 4,4	+	—	—	—
Prod. CO ₂ a partir de glicose	—	—	—	+

Fonte: Harrigan (1998).

3.2. *Enterococcus*

As bactérias do gênero *Enterococcus* fazem parte de um grupo heterogêneo de cocos Gram positivos, que partilham muitas das suas características com os gêneros *Streptococcus* e *Lactococcus*. Isso explica porque os enterococos associados a alimentos têm sido, muitas vezes, considerados como pertencendo à microbiota láctica. O gênero *Streptococcus* foi separado, durante a década de 80, em três gêneros *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Streptococcus*. Por conseguinte, as bactérias anteriormente chamadas de *Streptococcus faecalis* e *S. faecium* foram transferidas, em 1984, para o gênero *Enterococcus* como *Enterococcus faecalis* e *E. faecium*, respectivamente (SCHLEIFER & KILLPER-BALZ, 1984).

A presença de enterococos em produtos lácteos, na maioria das vezes, é considerada como uma indicação de condições sanitárias ineficientes durante a obtenção e o processamento do leite. Por outro lado, muitos autores sugerem que certas cepas de enterococos podem ser altamente desejáveis com base na sua contribuição positiva para o desenvolvimento do sabor durante a maturação de determinados queijos. O isolamento dos enterococos, a partir da microbiota do

leite, pode ser explicado por sua resistência térmica, sendo *Enterococcus faecium* e *E. faecalis* as espécies mais encontradas (GIRAFFA et al., 1997; FRANZ et al, 1999; CENTENO et al., 1996).

Cavalcante et al. (2007), isolaram cepas de *Enterococcus faecium* a partir de queijo de coalho artesanal, que de acordo com a avaliação tecnológica realizada, produziram queijos com excelente qualidade. Perri et al. (2007) também conseguiram isolar enterococos, porém, a partir de queijo de coalho industrializado. A resistência térmica dos enterococos (62,8°C por 30 minutos) explica sua presença nos queijos produzidos tanto a partir de leite cru, como leite pasteurizado.

O papel benéfico de enterococos levou também à inclusão de cepas em fermentos lácticos. Rosado et al. (2007) estudaram o efeito da adição de fermento, elaborado com bactérias do gênero *Enterococcus*, ao longo do processamento de queijo coalho. Os resultados demonstram que as etapas de cozimento da massa e de salga, nas condições estudadas, ajudaram a selecionar e favoreceram o desenvolvimento de *Enterococcus*. A persistência dos enterococos durante a maturação pode ser atribuída ao seu desenvolvimento em faixa de temperatura ampla (10-45°C), à sua alta tolerância ao calor, ácido e sal (GIRAFFA, 2003).

4. MUDANÇAS DURANTE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

Os queijos são constituídos basicamente por uma mistura de caseína, lipídeos, lactose ($\cong 1\%$), ácido láctico (1%), ácido cítrico (0,2%), cloreto de sódio (0,7 - 6%) e água (FOX et al., 2000).

A composição e a estrutura do queijo são determinadas durante o processo de fabricação, porém as características de cada variedade são desenvolvidas durante a maturação (FOX & LAW, 1991).

A maturação dos queijos é um fenômeno complexo que envolve uma série de transformações bioquímicas dos seus constituintes, como proteínas, lipídeos e carboidratos, durante a fabricação e vida de prateleira (McSWEENEY et al., 1993). Estas transformações são provocadas, principalmente, pelas enzimas provenientes das bactérias lácticas, enzimas naturais do leite e do coalho usado na

fabricação do queijo. Na maioria dos queijos, a proteólise, lipólise e glicólise são processos importantes para determinação da textura, da consistência, sabor e aroma do produto.

Apesar de não maturado, o queijo de coalho sofre mudanças durante o armazenamento refrigerado, no período compreendido entre produção e consumo. Algumas características típicas do queijo de coalho devem ser mantidas ao longo do tempo, como sabor e aroma suave e ligeiramente ácido, textura elástica (“borrachenta”) e baixa capacidade de derretimento, pois são requeridas pelo mercado consumidor.

4.1. Produção de diacetil

A 2,3-butanodiona, mais conhecida como diacetil, é uma importante dicetona encontrada na maioria dos produtos lácteos. Este composto é obtido a partir do piruvato decorrente do metabolismo da lactose e do citrato. A rota bioquímica é a seguinte: citrato - oxaloacetato - piruvato - acetolactato – diacetil / acetoína / 2,3-butanodiol (PALLES, 1998), como mostra a Figura 1.

O citrato está presente no leite em quantidades relativamente pequenas (aproximadamente 8 mM), mas é um importante precursor de compostos aromáticos como é o caso do diacetil e da acetoína (3-hidroxi-2-butanona). Ambos possuem o característico “aroma de manteiga”, mas o aroma do diacetil é 100 vezes mais forte que o da acetoína, sendo que a concentração de diacetil varia de acordo com o alimento (CURIONI & BOSSET, 2002).

O sabor e aroma de manteiga são características marcantes em queijo de coalho grelhado, e foram determinantes para a preferência dos consumidores, em testes sensoriais realizados em queijos comerciais (PEREZ, 2005). Mamede et al. (2007) observaram forte aroma de manteiga nos queijos de coalho fabricados com adição de cepas selecionadas de *Enterococcus*, durante 45 dias de armazenamento refrigerado, provavelmente pela formação de diacetil.

A produção de diacetil por *Enterococcus* spp, tem recebido atenção crescente, pois as bactérias deste gênero estão presentes em elevada contagem na maioria dos queijos, em especial os artesanais. Neste contexto, muitas cepas de *E. faecalis* e *E. faecium* têm sido correlacionadas ao desenvolvimento de

compostos aromáticos (SARANTINOPOULOS et al., 2001). Pesquisadores afirmam que os enterococos têm seu papel na maturação e no desenvolvimento do sabor em queijos devido à atividade proteolítica, bem como a produção de diacetil (SARANTINOPOULOS et al., 2002; GIRAFFA et al., 1997; CENTENO et al., 1996).

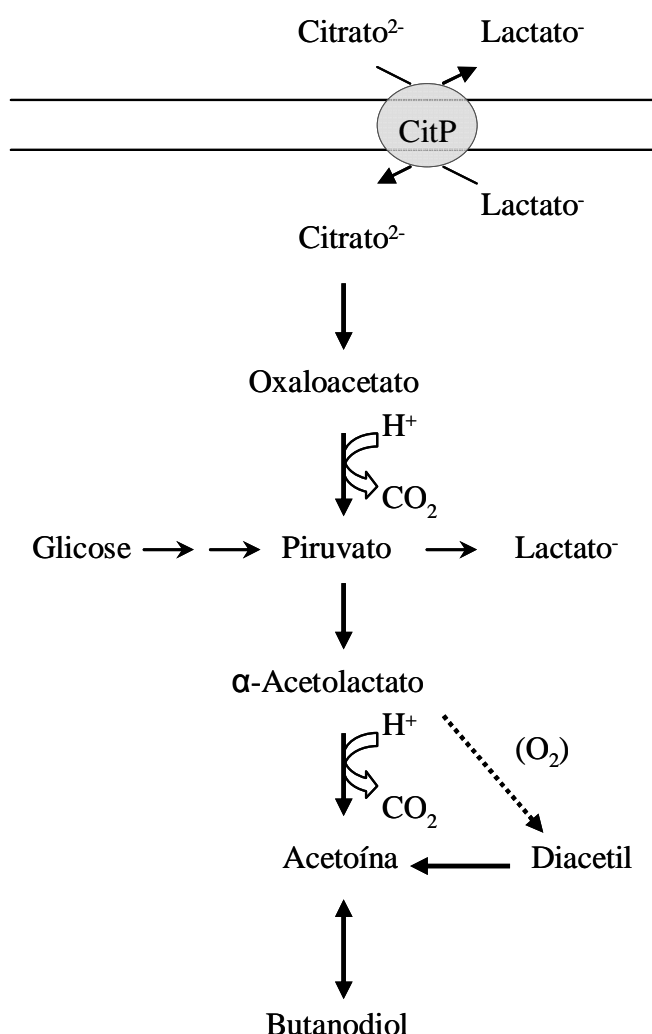


Figura 1. Metabolismo do citrato e produção de diacetil / acetoína por *Lactococcus lactis*. (GARCÍA-QUINTÁNS et al., 2008).

A Tabela 2, do trabalho realizado por Centeno et al. (1996) com queijo Cebreiro, mostra que os enterococos, em sua maioria, são mais proteolíticos e produzem mais diacetil / acetoína do que os outros grupos de BAL.

Tabela 2. Atividade proteolítica (mM glicina / litro de leite) e produção de diacetil / acetoína (mg diacetil / litro de leite) de espécies de BAL isoladas de queijo Cebreiro (CENTENO et al., 1996).

Bactéria láctica	Isolados		Atividade proteolítica		Produção de diacetil / acetoína	
	Número	%	Média	Faixa	Média	Faixa
Lactococci	30	23.8				
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	24	19.0	0.23	0.00 – 0.69	0.015	0.002 – 0.079
(<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i>)	(3)	(2.4)	(0.12)	(0.02 – 0.32)	(0.052)	(0.032 – 0.079)
<i>Lc. raffinolactis</i>	6	4.8				
Leuconostocs	25	19.8	ND*	ND	0.004	0.000 – 0.034
<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	10	7.9			0.005	0.000 – 0.034
<i>L. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	8	6.3			0.005	0.000 – 0.020
<i>L. mesenteroides</i> subsp. <i>dermanicum</i>	6	4.8			0.001	0.000 – 0.003
<i>Leuconostoc</i> spp.	1	0.8			0.004	
Lactobacilli	6	4.8	0.19	0.00 – 0.81	ND	ND
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>pseudoplantarum</i>	3	2.4	0.36	0.12 – 0.81		
<i>Lb. viridescens</i>	1	0.8	0.07			
<i>Lactobacillus</i> spp (mesofílico e heterofermentativo)	2	1.6	0.00			
Enterococci	59	46.8	0.48	0.00 – 2.45	0.045	0.002 – 0.193
<i>Enterococcus faecalis</i>	38	30.1	0.67	0.00 – 2.45	0.050	0.002 – 0.193
(<i>Ec. faecalis</i> vai. <i>liquefaciens</i>)	(15)	(11.9)	(1.48)	(0.93 – 2.45)	(0.066)	(0.009 – 0.193)
<i>Ec. faecium</i>	6	4.8	0.06	0.00 – 0.19	0.036	0.008 – 0.102
<i>Ec. durans</i>	5	4.0	0.21	0.05 – 0.71	0.033	0.002 – 0.093
<i>Enterococcus</i> spp.	10	7.9	0.14	0.00 – 0.59	0.037	0.007 – 0.073
Não identificados	6	4.8				
Total	126	100				

* Não determinado

Fonte: Centeno et al. (1996).

4.2. Proteólise

A proteólise é o evento bioquímico mais complexo e importante que ocorre durante a maturação da maioria dos queijos. A maturação é caracterizada pela quebra das proteínas do queijo (caseínas - CN), resultante da atividade do coalho, das proteases e peptidases do fermento láctico, da microbiota secundária e das enzimas naturais do leite (FOX & LAW, 1991).

A maior parte do coalho adicionado ao leite é perdida no soro, sendo que no máximo 15% permanecem na massa após a fabricação (GUINEE & WILKINSON, 1992). Esta porcentagem, segundo Fox & Law (1991), depende de fatores como tipo do coagulante, temperatura de cozimento e teor de umidade do queijo. De acordo com Sousa et al. (2001) o coagulante é parcialmente ou completamente desnaturado pela alta temperatura de cozimento usada na fabricação do queijo. Portanto, se a massa permanecer a 54°C por 14 minutos, por exemplo, a quimosina presente no soro será praticamente inativada (BERG & EXTERKATE, 1993).

Como na fabricação do queijo de coalho a massa é geralmente cozida entre 40 e 50°C, parte do coalho provavelmente será desnaturada. Sendo assim, as caseínas (α_{s1} -CN e β -CN) são hidrolisadas pela atividade do coalho residual retido na massa e pela plasmina, produzindo peptídeos grandes e médios. Estes peptídeos são hidrolisados pelas enzimas das BAL e da microbiota secundária (NSLAB) em peptídeos menores e aminoácidos (McSWEENEY, 2004).

A intensidade da proteólise pode ser mensurada através de índices chamados “extensão” (proteólise primária) e “profundidade” (proteólise secundária). A proteólise primária está relacionada, principalmente, com a ação do coalho residual, e a secundária pelas enzimas de bactérias lácticas, que atuam sobre os peptídeos liberados pelo coagulante, produzindo aminoácidos e compostos de baixo peso molecular.

A atividade proteolítica é também influenciada pela relação entre sal e umidade, pela temperatura de cozimento e pelas variações de pH durante a maturação. No caso da relação sal / umidade, quanto maior este valor, menor é a degradação das proteínas (LAWRENSE et al., 1987).

Como o queijo de coalho apresenta de média a alta umidade em sua composição, pode ou não ser adicionado de fermento láctico e a temperatura de cozimento durante a fabricação é variável, a proteólise deverá ocorrer, mesmo que limitada. Porém, a fragilização da rede protéica pode resultar em maior derretimento do queijo (LAWRENSE et al., 1987; TUNICK et al., 1993). Essa propriedade é importante para o queijo de coalho, uma vez que a aceitação deste produto pelo consumidor está relacionada com o baixo derretimento. Além do derretimento, a proteólise também acaba influenciando a textura, sabor e durabilidade do produto.

5. CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS

A funcionalidade do queijo depende da sua variedade, composição e processo de fabricação. Uma das considerações mais importantes na elaboração do queijo é a obtenção de um produto aceitável sob os pontos de vista de sabor e textura. Os aspectos funcionais mais observados pelo consumidor de queijo de coalho grelhado são: textura, derretimento, liberação de óleo e cor.

A textura depende da estrutura do queijo e pode ser influenciada pela variação nas condições de processamento. O manuseio da coalhada, por exemplo, afeta sua habilidade de reter gordura e umidade, influenciando sua composição e, conseqüentemente, sua textura.

As alterações na estrutura do queijo estão relacionadas com a hidrólise da matriz de caseína (α_{s1} -CN), aumento de pH (formação de NH_3) e decréscimo da atividade de água causada pelo aumento da retenção de água pelos novos grupos aminos e carboxílicos formados durante a proteólise (McSWEENEY, 2004).

A propriedade de derretimento é uma das características funcionais mais importantes e se refere à capacidade do queijo em derreter uniformemente, homogeneamente e permanecer com consistência macia sem liberação de óleo e água.

Variações no teor de umidade podem afetar a capacidade de derretimento do queijo, já que um maior teor de umidade resulta em textura mais macia e

aumento do derretimento (TUNICK et al., 1991). Temperaturas elevadas do cozimento e alta quantidade de sal são inversamente proporcionais ao teor de umidade retido no coágulo (ROWNEY et al., 1999).

A textura “borrachenta”, típica do queijo de coalho, pode ser atribuída, em parte, à inativação do coalho durante a fabricação. Sheeham et al. (2007), em pesquisa com queijos semi-duros elaborados com cultura termofílica, mostrou que a hidrólise da α_{s1} -CN, durante a maturação, reduziu com o aumento da temperatura de cozimento da massa de 47 para 53°C.

Muitas das indústrias de queijo de coalho usam temperaturas de cozimento da massa na faixa de 46 a 50°C (PEREZ, 2005). Este procedimento, somado também a posterior adição de sal à massa, resulta na inativação do fermento utilizado, o que deve resultar em baixa intensidade de proteólise e, conseqüentemente, contribuir para um baixo derretimento do queijo quando submetido a aquecimento.

6. ASPECTOS SENSORIAIS

As respostas sensoriais ao sabor, aroma, textura e cor dos alimentos ajudam a determinar as preferências e os hábitos dos consumidores (JACK et al., 1993), sendo fundamentais para a aceitação dos queijos.

As características sensoriais do queijo de coalho estão diretamente ligadas ao tipo de processo empregado na fabricação, como adição ou não de fermento láctico, tempo e temperatura de cozimento da massa, pH de dessoragem, tipo de salga, temperatura de pasteurização, entre outros.

Perez (2005) constatou que o queijo de coalho comercial mais aceito possuía um sabor agradável ao paladar dos consumidores. Este sabor pode ser resultado do tipo de tratamento térmico aplicado ao leite (68-69°C/5 min). Por ser mais drástico que a pasteurização (72°C/15 seg) pode ter selecionado microorganismos e conseqüentemente suas enzimas, capazes de produzir diacetil, composto característico do sabor e aroma de manteiga.

O queijo de coalho, quando não adicionado de fermento láctico, pode acumular peptídeos de alto peso molecular resultantes da proteólise primária, levando ao aparecimento de gosto amargo, que dependendo dos níveis, podem prejudicar a aceitação sensorial do queijo.

A textura do queijo é uma das propriedades mais importantes do ponto de vista do consumidor. Sendo assim, o queijo de coalho para churrasco deve apresentar características típicas para que derreta o suficiente e possua a textura elástica ("borrachenta") esperada pelo consumidor. Porém não deve derreter excessivamente, chegando ao escoamento, pois dificulta o seu consumo e resulta em perdas do produto na grelha, forma ou outros locais onde possa estar sendo preparado.

Como o queijo de coalho é consumido principalmente sob a forma grelhada, espera-se que desenvolva coloração "amarronzada" ao ser submetido ao aquecimento, formando uma superfície externa tostada e mantendo-se macio internamente.

REFERÊNCIAS

BENEVIDES, S.D.; TELLES, F.J.S.; GUIMARÃES, A.C.L.; FREITAS, A.N.M. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo de coalho produzido com leite cru e pasteurizado no estado do Ceará. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA)**. v.19, n.1, p.139-153, 2000.

BERG, G.V.B.; EXTERKATE, F.S. Technological parameters involved in cheese ripening. **International Dairy Journal**. v.3, p.485-507, 1993.

BRASIL. Instrução Normativa nº30, de 26 de junho de 2001. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de manteiga de leite, queijo de coalho e queijo de manteiga. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 de julho de 2001.

CARVALHO, J.D. **Caracterização da microbiota lática isolada de queijo de coalho artesanal produzido no Ceará e de suas propriedades tecnológicas.** Campinas: Unicamp, 2007. 154p. Tese (Doutorado).

CARVALHO, J.D.G.; BRUNO, L.M.; NASSU, R.T.; LIMA, C.P.; VASCONCELOS, N.M.; KUAYE, A.Y. Bactérias ácido lácticas isoladas de queijos de coalho artesanais comercializados em Fortaleza, CE. **Revista do Instituto de Laticínio Cândido Tostes.** v.60, n.345, p.221-224, 2005.

CAVALCANTE, J.F.M.; ANDRADE, N.J.; FURTADO, M.M.; FERREIRA, C.L.L.F.; PINTO, C.L.O.; ELARD, E. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura lática endógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v.27, n.1; p.205-214; 2007.

CENTENO, J.A.; MENÉNDEZ, S.; RODRÍGUES-OTERO, J.L. Main microbial flora present as natural starters in Cebreiro raw cow's-milk cheese. **International Journal of Food Microbiology.** v.33, p.307-313, 1996.

CURIONI, P.M.G.; BOSSET, J.O. Review: key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. **International Dairy Journal.** v.12; p.959-984, 2002.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. **Biochemistry of cheese ripening.** In Fundamentals of Cheese Science. Aspen Publishers, p.236-281, 2000.

FOX, P.F.; LAW, J. Enzimology of cheese ripening. **Food Biotechnology,** v.5, n.3, p.239-262, 1991.

FRANZ, C.M.A.P.; HOLZAPFEL, W.H.; STILES, M.E. Enterococci at the crossroads of food safety. **International Journal of Food Microbiology**. v.47, p.1-24, 1999.

GARCÍA-QUINTÁNS, N.; REPIZO, G.; MARTÍN, M.; MAGNI, C.; LÓPES, P. Activation of the diacetyl / acetoin pathway in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *Diacetylactis* CRL264 by acidic growth. **Applied and Environmental Microbiology**. v.74, n.7, p.1988-1996, 2008.

GIRAFFA, G. Functionality of enterococci in dairy products. **International Journal of Food Microbiology**. v.88, p.215-222, 2003.

GIRAFFA, G.; CARMINATI, D.; NEVIANI, E. Enterococci isolated from dairy products: a review of risks and potential technological use. **Journal of Food Protection**, v.60, n.6, p.732-738, 1997.

GUINEE, T.M.; WILKINSON, M.G. Rennet coagulation and coagulants in cheese manufacture. **Journal of the Society of Dairy Technology**. v.45, p.94-104, 1992.

HARRIGAN, W.F. **Laboratory Methods in Food Microbiology**. San Diego: Academic Press. 3.ed., 1998.

HOVE, H.; NORGAARD, H.; MORTENSEN, P. B. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. **European Journal of Clinical Nutrition**, n.53, p.339-350, 1999.

JACK, F.R.; PIGGOTT, J.R.; PATERSON, A. Discrimination of texture and appearance in Cheddar cheese using Consumer Free-Choice Profiling. **Journal of Sensory Studies**. v.8, p.167-176, 1993.

LAWRENCE, R.C.; CREAMER, L.K.; GILLES, J. Texture development during cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.1748-1760, 1987.

MAMEDE, P.L.; PERRI, J.M.; ROSADO, M.S.; PITON, M.A.J.; KUAYE, A.Y.; VIOTTO, W.H. Caracterização de queijos de coalho elaborados com culturas selecionadas de *Enterococcus*. In: Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. **Anais do 7º SLACA**, Campinas, CD-ROM, 2007.

McSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n.(2/3), p. 127-144, 2004.

McSWEENEY, P.L.H.; FOX, P.F. **Cheese: Methodos of Chemical Analysis**. In: FOX, P.F. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, London: Chapman & Hall, 2.ed., v.1, p. 341-388, 1993.

PALLES, T.; BERESFORD, T.; CONDON, S.; COGAN, T.M. Citrate metabolism in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. **Journal of Applied Microbiology**, v.85, p.147-154, 1998.

PEREZ, R.M.; VIOTTO, W.H. Propriedades funcionais e composição de queijos de coalho comerciais. In: Congresso Nacional de Laticínios. **Anais do 25º CNL**, Juiz de Fora, CD-ROM, 2008.

PEREZ, R.M. **Perfil sensorial, físico-químico e funcional de queijo de coalho comercializado no município de Campinas, SP**. Campinas: Unicamp, 2005. 140p. Dissertação (Mestrado).

PERRI, J.M.; PITON, M.A.J.; ROSADO, M.S.; MAMEDE, P.L.; KUAYE, A.Y.; VIOTTO, W.H. Caracterização de propriedades tecnológicas de bactérias do gênero *Enterococcus* isoladas de queijo de coalho. In: Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. **Anais do 7º SLACA**, Campinas, CD-ROM, 2007.

ROSADO, M.S.; PERRI, J.M.; PITON, M.A.J.; MAMEDE, P.L.; KUAYE, A.Y.; VIOTTO, W.H. Comportamento de bactérias do gênero *Enterococcus* no processamento de queijo coalho. In: Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. **Anais do 7º SLACA**, Campinas, CD-ROM, 2007.

ROWNEY, M.; ROUPAS, P.; HICKEY, M. W.; EVERETT, D.W. Factors affecting the functionality of Mozzarella cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, v.54, n.2, p.94-102, 1999.

SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A. **Lactic acid bacteria**. New York: Marcel Dekker. 442p, 1993.

SARANTINOPOULOS, P.; ANDRIGHETTO, C.; GEORGALAKI, M.D.; REA, M.C.; LOMBARDI, A.; COGAN, T.M.; KALANTZOPOULOS, G.; TSAKALIDOU, E. Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. **International Dairy Journal**. v.11, p.621-647, 2001.

SARANTINOPOULOS, P.; KALANTZOPOULOS, G.; TSAKALIDOU, E.F. Effect of *Enterococcus faecium* on microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Greek Feta cheese, **International Journal of Food Microbiology**. v.76, p.93-103, 2002.

SCHLEIFER, K.H.; KILLPER-BALZ, R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.34, p.31-34, 1984.

SHEEHAN, J.J.; OLIVEIRA, J.C.; KELLY, A.L.; McSWEENEY, P.L.H. Effect of cook temperature on primary proteolysis and predicted residual chymosin activity

of a semi-hard cheese manufactured using thermophilic cultures. **International Dairy Journal**. v.17, p.826-834, 2007.

SOUSA, M.J.; ARDO, Y.; McSWEENEY, P.L.H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**. v.11, p.327-345, 2001.

TUNICK, M. H.; MACKEY, K. L.; SMITH, P. W.; HOLSINGER, V. H. Effects of composition and storage on the texture of Mozzarella cheese. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, v.45, n.2, p.117-125, 1991.

TUNICK, M.H.; MALIN, E.L.; SMITH, P.W.; HOLSINGER, V.H. Proteolysis and rheology of low fat and full fat Mozzarella cheese prepared from homogenized milk. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3621-3628, 1993.

YUN, J.J.; KIELY, L.J.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S. Mozzarella cheese: impact of cooking temperature on chemical composition, proteolysis, and functional properties. **Journal of Dairy Science**. n.76, p.3664–3673, 1993.

CAPÍTULO II

EFEITO DA TEMPERATURA DE COZIMENTO NA COMPOSIÇÃO, PROTEÓLISE E FUNCIONALIDADE DO QUEIJO DE COALHO

A ser submetido à revista “Ciência e Tecnologia de Alimentos”

EFEITO DA TEMPERATURA DE COZIMENTO NA COMPOSIÇÃO, PROTEÓLISE E FUNCIONALIDADE DO QUEIJO DE COALHO

Effect of cooking temperature on composition, proteolysis and functionality of “queijo de coalho”

Priscila Lourenzon Mamede¹; Ademir José Petenate²; Walkiria Hanada Viotto^{1*}

¹ Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia de Alimentos,
Departamento de Tecnologia de Alimentos, Rua Monteiro Lobato, 80, Cidade Universitária Zeferino
Vaz, CP 6121, Campinas, SP, 13083-862.

² UNICAMP, Instituto de Matemática, Estatística e Computação Científica,
Departamento de Estatística – 13083-970.

* A quem a correspondência deve ser enviada. E-mail: walkiria@fea.unicamp.br

RESUMO

O impacto da temperatura de cozimento da massa (40, 45 e 50°C) na composição, proteólise e funcionalidade do queijo de coalho foi investigado. O queijo de coalho cozido a 40°C apresentou maior teor de umidade e menor porcentagem de proteína. O aumento da temperatura de cozimento resultou em queijos com menor profundidade da proteólise e com textura mais firme. As principais mudanças ocorridas com o tempo de armazenamento foram a queda do pH, o aumento da proteólise, a diminuição da elasticidade e coesividade, e aparecimento de coloração amarronzada no queijo após o derretimento. Não houve influência da temperatura de cozimento e do tempo de armazenamento na capacidade de derretimento e formação de óleo livre.

Palavras-chave: queijo de coalho, cozimento da massa, composição, proteólise, características funcionais.

SUMMARY

The impact of the curd cooking temperature (40, 45 and 50°C) on the composition, proteolysis and functionality of “queijo de coalho” was investigated. The “queijo de coalho” cooked at 40°C showed the highest moisture content and lowest protein percentage and a less firm texture. The main changes occurring with storage time were a fall in pH, increase in proteolysis, decrease in elasticity and cohesiveness, and the appearance of a brownish color after melting. Neither the cooking temperature nor the storage time affected the melting capacity or the formation of free oil.

Keywords: “queijo de coalho”, curd cooking, composition, proteolysis, functional characteristics.

1. INTRODUÇÃO

O queijo de coalho, típico da região Nordeste, vem ganhando mercado em todo o país, sendo consumido principalmente na forma grelhada. Em decorrência disso, a textura e a capacidade de derretimento são os atributos fundamentais para a aceitação do queijo de coalho. O consumidor espera que o queijo de coalho apresente textura elástica e “borrachenta”, gosto levemente ácido, sabor e aroma suave e que, ao grelhar, não derreta demasiadamente e libere pouco ou nenhum óleo livre.

A textura do queijo é resultante dos teores de proteína, água, gordura, sal e cálcio, assim como do pH (GUNASEKARAN E AK, 2003b), da extensão e profundidade da proteólise, do estado da água e da microestrutura. Além disso, estudos mostram que a interação entre as micelas de caseína também são importantes na definição das propriedades funcionais (LUCEY et al., 2003).

A redução no teor de gordura, por exemplo, resulta em aumento da dureza e elasticidade do queijo (TUNICK et al., 1993). Sendo assim, a variação nas

etapas de fabricação pode ser fundamental na definição das características funcionais dos queijos, como a cor, a textura, a capacidade de derretimento e a formação de óleo livre.

Perez (2005) relatou que as etapas de maior variação entre as indústrias processadoras de queijo de coalho foram o tratamento térmico do leite, a adição de fermento e o tipo de salga e de cozimento da massa dos queijos, sendo que esta variava desde o não cozimento da massa até atingir temperaturas entre 40 a 50°C.

A etapa de cozimento da massa auxilia no controle da sinérese, influencia na perda de gordura no soro, e no teor de umidade final do queijo (FAGAN et al., 2007; GHOSH et al., 1990). A temperatura de cozimento aplicada à massa durante a fabricação afeta a composição, a intensidade da proteólise (MCSWEENEY, 2004), e, conseqüentemente a textura dos queijos (LUCEY et al., 2003).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a influência da temperatura de cozimento da massa na composição do queijo e, acompanhar as mudanças nos índices de extensão e profundidade da proteólise e nas características funcionais do queijo de coalho, ao longo dos 90 dias de armazenamento refrigerado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Fabricação do queijo de coalho

Leite cru (400 litros), proveniente de uma cooperativa local, foi padronizado (relação caseína:gordura = $0,83 \pm 0,04$) para se obter uma composição química homogênea. O leite foi, então, submetido à pasteurização (72-73°C por 15 segundos) em trocador de calor a placas, resfriado a 4°C, separado em três porções iguais de 133 litros e mantido em câmara fria, durante uma noite.

No dia seguinte, três bateladas de queijo foram fabricadas a diferentes temperaturas de cozimento da massa (40, 45 e 50°C). A ordem de fabricação foi previamente aleatorizada. A fabricação dos queijos foi replicada em três datas diferentes, o que resultou em nove experimentos. Utilizou-se um tanque de queijo

automático (Biosinox, Lambari, MG, Brasil) com capacidade para 150 litros, composto de lira para corte e agitação ajustável. O leite foi inicialmente aquecido a 37°C e adicionou-se, a seguir, cloreto de cálcio (250 mg/L), ácido láctico (250 mg/L; Chemco Ind. Com. Ltda., Campinas, SP, Brasil), e coalho bovino em pó (Chr. Hansen, Valinhos, SP, Brasil). Após verificação do ponto de corte (35 minutos), o gel foi cortado em cubos, com cerca de 0,5 cm de aresta, e a mistura coágulo/soro permaneceu sob agitação por 5 minutos. Em seguida, iniciou-se o tratamento da massa, através de mexedura e aquecimento indireto, elevando 1°C a cada 2 minutos, até alcançar as temperaturas de 40 (Q40), 45 (Q45) e 50°C (Q50), permanecendo em agitação, nas respectivas temperaturas, por 10 minutos. Após esta etapa, procedeu-se a dessoragem parcial e a salga na massa (2,7% do volume de leite), com agitação de 1 minuto para incorporação do sal. Foi realizada a dessoragem final e a massa foi distribuída em formas retangulares de 1 kg e encaminhada para a prensa. A prensagem se deu da seguinte forma: 15 kg durante 30 minutos e, após inversão, 30 kg durante 16 horas. Os queijos, depois de permanecerem 24 horas a 10°C, foram pesados, embalados a vácuo em sacos plásticos, e armazenados a 4°C durante 90 dias. Cada unidade foi enumerada e submetida a um sorteio para a realização das análises.

2.2. Amostragem

A coleta de amostras para avaliar a composição dos queijos foi realizada no 5º dia após o processamento. Para constituição de uma amostra representativa, um queijo foi aleatoriamente escolhido, cortado em cubos e triturado em multiprocessador até obtenção de partículas de 2-3 mm. O material, assim obtido, foi homogeneizado manualmente e acondicionado em frascos de vidro. As amostras foram mantidas sob refrigeração (4°C) até o momento das análises.

Aos 5, 20, 40, 60 e 90 dias de armazenamento refrigerado os queijos foram submetidos ao mesmo procedimento de amostragem para a avaliação do pH, acidez, proteólise e funcionalidade.

2.3. Composição do leite e queijo

As análises do leite foram realizadas no momento da recepção e após a pasteurização. Mudanças no pH e acidez titulável do leite, soro e queijo foram monitoradas durante a fabricação do queijo e durante o tempo de armazenamento refrigerado. O pH foi determinado através do método potenciométrico, conforme AOAC 935.17 (1995). Para a determinação da acidez titulável utilizou-se o método da AOAC 947.05 (1995) para o leite, e de acordo com Marshall (1992), para os queijos. O extrato seco total (EST) do leite e queijo foi obtido pelo método gravimétrico, segundo AOAC 925.23 (1995). Para a determinação de gordura utilizou-se o método da AOAC 989.05 (1995) para o leite, e o método de Gerber (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985) para o queijo. A determinação do nitrogênio total foi realizada pelo método de micro-Kjeldhal (leite) e macro-Kjeldhal (queijo), de acordo com AOAC 991.20 (1995), utilizando o fator de correção 6,38. Para determinação do teor de sal dos queijos foi empregado o método de Volhard (IDF, 1979).

Todas as determinações físico-químicas foram realizadas em triplicata.

2.4. Mudanças durante o armazenamento refrigerado

2.4.1. pH, acidez titulável e proteólise

O pH foi determinado através do método potenciométrico, conforme AOAC 935.17 (1995) e a determinação da acidez titulável de acordo com Marshall (1992). Os teores de nitrogênio solúvel (NS) em tampão de acetato a pH 4,6 e em ácido tricloroacético (TCA) 12% foram determinados para medir a extensão e a profundidade da proteólise, respectivamente. A preparação das amostras foi realizada de acordo com Bynum & Barbano (1985). Os teores de nitrogênio solúvel foram determinados por macro-Kjeldahl conforme AOAC 991.20 (1995) e convertidos em proteína solúvel multiplicando-se pelo fator de conversão 6,38. Os resultados foram expressos como porcentagem dos teores de proteína total do queijo. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

2.4.2. Textura e funcionalidade do queijo

As propriedades avaliadas foram capacidade de derretimento, formação de óleo livre, perfil de textura, cor antes e após derretimento.

A capacidade de derretimento do queijo foi determinada, em sextuplicata, pelo método de Schreiber's modificado, descrito por Kosikowski & Mistry (1997). A formação de óleo livre foi avaliada, em duplicata, pelo método de Gerber modificado, conforme Kindstedt & Fox (1991). Os resultados foram expressos em função da porcentagem de gordura em base seca (GBS).

A textura foi determinada instrumentalmente, em sextuplicata, pela análise do perfil de textura (TPA - Texture Profile Analysis) utilizando-se o texturômetro TAXT_{2i} (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK). As condições utilizadas foram: a) velocidade pré-teste=1,0 mm/seg; b) velocidade do teste=1,0 mm/seg; c) velocidade pós-teste=1,0 mm/seg; d) distância que o dispositivo comprimiu a amostra=9,6 mm (40% de compressão); e) força de contato=10,0 g; f) dispositivo=cilindro metálico com 35 mm de diâmetro (SMS P/35). Os parâmetros medidos foram: dureza (g), mastigabilidade (g), elasticidade e coesividade, definidos na Tabela 1.

Tabela 1. Definições físicas dos parâmetros da análise de perfil de textura (TPA). Adaptação de Gunasekaran & Ak (2003a).

Parâmetros	Definição
Dureza (<i>Hardness</i>)	Força necessária para atingir determinada deformação.
Mastigabilidade (<i>Chewiness</i>)	Energia necessária para mastigar uma amostra até estar pronta para engolir.
Elasticidade (<i>Springiness</i>)	Grau em que a amostra retorna à sua forma original após compressão.
Coesividade (<i>Cohesiveness</i>)	Resistência das ligações internas que compõem o corpo do produto.

A cor dos queijos foi avaliada antes do derretimento (AD) e após o derretimento (PD) através do sistema de medida HunterLab (L^* , a^* , b^*) com medidas das intensidades de L^* =luminosidade, a^* =vermelho-verde e b^* =amarelo-azul, utilizando-se o espectrofotômetro de cor COLOQUEST II (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, USA). As medidas foram determinadas usando iluminante D65, ângulo do observador 10°, sendo a leitura feita em reflectância com especular excluída (modo RSIN). A medida da cor do queijo AD foi avaliada na face central da peça, em sextuplicata. Antes da medida de cor do queijo PD, as amostras foram trituradas e mantidas em estufas a 105°C por 1 hora em formas de empadas com revestimento Teflon®, de acordo com o método descrito por Barbano et al. (1993). A medida da cor do queijo PD foi realizada em sextuplicata.

2.5. Delineamento experimental e análise estatística dos resultados

O delineamento experimental utilizado foi do tipo aleatorizado em blocos. O fator estudado foi a temperatura de cozimento da massa do queijo (T), com três níveis de variação (40, 45 e 50°C). Os três ensaios foram realizados em triplicata, totalizando 9 experimentos. Os resultados de composição do queijo foram analisados através de Análise de Variância (ANOVA). As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey, para verificar diferenças entre as médias, utilizando o procedimento PROC ANOVA, do programa SAS®. Para a avaliação do pH, acidez, proteólise e funcionalidade foi adotado o delineamento do tipo split-plot, sendo que a sub-parcela foi obtida pela incorporação do fator tempo de armazenamento refrigerado (t). As análises de pH, acidez, proteólise e funcionalidade foram realizadas nos dias 5, 20, 40, 60 e 90 de armazenamento refrigerado. O teste F-ANOVA foi usado para testar as diferenças entre tratamentos, entre tempos de armazenamento refrigerado e a interação tratamento *versus* tempo, utilizando o procedimento PROC GLM, do programa SAS®.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Influência da temperatura de cozimento na composição dos queijos

O leite pasteurizado utilizado na fabricação dos queijos de coalho apresentou teores de sólidos totais, gordura, proteína total e caseína ($M \pm DP$) de $11,60 \pm 0,42$; $3,20 \pm 0,10$; $3,31 \pm 0,13$; $2,65 \pm 0,10$, respectivamente.

Os resultados da composição dos queijos de coalho fabricados com diferentes temperaturas de cozimento da massa, com 5 dias de fabricação, estão apresentados na Tabela 2. A temperatura de cozimento da massa afetou significativamente a composição dos queijos, principalmente com relação ao teor de umidade e proteína. Quanto maior foi a temperatura de cozimento, maior liberação de soro (sinérese) e menor umidade do queijo.

Tabela 2. Composição média dos queijos ($n=3$), elaborados com diferentes temperaturas de cozimento da massa, equivalentes a: 40°C (Q40), 45°C (Q45) e 50°C (Q50).

Componente	Tratamentos*		
	Q40	Q45	Q50
pH	6,62 ^b	6,62 ^b	6,66 ^a
Acidez (% ác. láctico)	0,14 ^a	0,13 ^{ab}	0,12 ^b
Umidade (%)	52,37 ^a	48,98 ^b	45,98 ^c
Gordura (%)	23,28 ^b	25,22 ^a	25,89 ^a
GBS (%) **	48,78 ^{ab}	49,39 ^a	48,00 ^b
Proteína (%)	18,36 ^c	20,21 ^b	21,60 ^a
Sal (%)	2,75 ^a	2,55 ^a	2,68 ^a
S/U ***	5,25 ^b	5,21 ^b	5,83 ^a

*a,b,c - médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

** Gordura em base seca. *** Relação sal / umidade.

Houve diferença significativa na acidez titulável dos queijos em função da temperatura de cozimento utilizada, como pode ser visto na Tabela 2. Os queijos

fabricados com temperatura de cozimento de 40°C apresentaram acidez maior que os fabricados a 50°C. Como não se adicionou fermento durante a fabricação dos queijos, microrganismos que sobreviveram à pasteurização, ou contaminantes pós-pasteurização, possivelmente foram responsáveis pela produção de ácido láctico.

As variações na temperatura de cozimento também influenciaram na capacidade tampão do queijo, como atestam os valores de pH encontrados nos mesmos (Tabela 2). O aumento da temperatura de cozimento reduziu a umidade da coalhada e, portanto, diminuiu o teor de lactose, o que resulta em uma razão lactose/proteína menor e, conseqüentemente, maior capacidade tampão e queijos com pH mais elevado. O teor de sal / umidade do Q50 foi significativamente maior ($p=0,0255$) em relação a Q40 e Q45, em decorrência da menor porcentagem de umidade apresentada pelo Q50.

3.2. Evolução do pH e acidez titulável

Os resultados da Tabela 3 mostram que a variação da temperatura de cozimento não influenciou o pH e a acidez titulável dos queijos. No entanto, houve uma queda significativa do pH ($p=0,0040$) ao longo do armazenamento refrigerado (Figura 1).

Tabela 3. Quadrados médios e probabilidades para evolução do pH e da acidez titulável dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C ($n=3$).

Fatores	GL	pH		Acidez titulável	
		QM	p	QM	p
Tratamento (T)	2	0,0131	0,6757	0,0004	0,9059
Erro (a)	4	0,0302	-	0,0042	-
Tempo (t)	4	0,2666	0,0040	0,0097	0,0562
Interação (T * t)	8	0,0057	0,9985	0,0020	0,8121
Erro (b)	24	0,0521	-	0,0870	-
R ²	-	0,5306		0,4767	

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; p = probabilidade

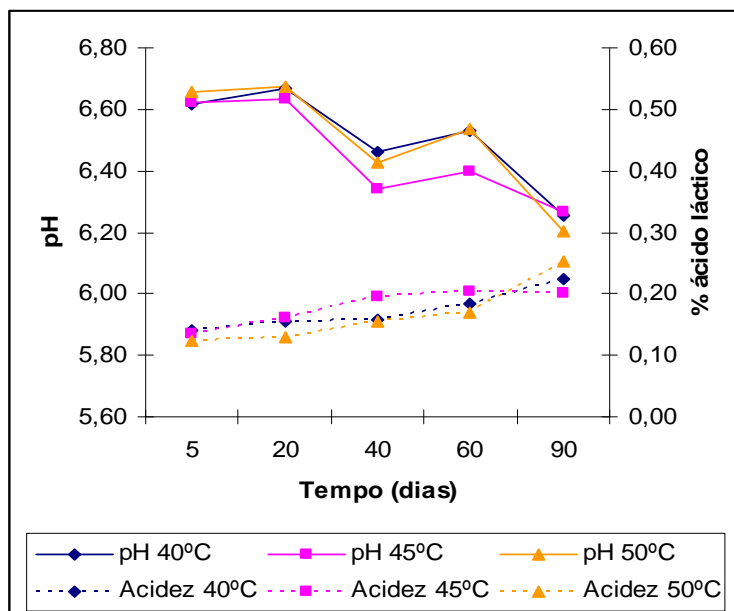


Figura 1. Evolução do pH e acidez titulável (% ácido láctico) dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. ♦, 40°C (Q40); ■, 45°C (Q45) e ▲, 50°C (Q50).

O decréscimo do valor de pH depende da capacidade tamponante do queijo, devido à quantidade de proteínas e sais minerais. A liberação de aminoácidos básicos, decorrentes da proteólise secundária, pode ter sido responsável pelo aumento do pH no dia 60 (Figura 1). Embora não haja diferença estatística significativa ($p=0,0562$), pode ser observada (Figura 1) uma ligeira elevação da porcentagem de ácido láctico com o tempo, devido à fermentação da lactose do queijo.

3.3 Evolução da proteólise

McSweeney (2004) afirma que a temperatura de cozimento é uma etapa da fabricação que está relacionada diretamente com o ritmo e a extensão da proteólise. Neste estudo, apenas a profundidade da proteólise dos queijos, expressa pela quantidade de nitrogênio solúvel a TCA 12%, sofreu influência significativa ($p=0,0366$) da temperatura de cozimento da massa. O aumento da temperatura de cozimento resultou em menor profundidade da proteólise. Além de aumentar a sinérese e reduzir a umidade, uma maior temperatura de cozimento

pode ter resultado em menor desenvolvimento da microbiota remanescente no queijo, minimizando a intensidade da proteólise secundária.

Porém, tanto a extensão como a profundidade da proteólise dos queijos de coalho foram influenciadas pelo tempo de armazenamento ($p < 0,0001$), conforme observado na Tabela 4.

Tabela 4. Quadrados médios e probabilidades para evolução da extensão (IEP) e profundidade (IPP) da proteólise dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C (n=3).

Fatores	GL	IEP		IPP	
		QM	p	QM	p
Tratamento (T)	2	11,8641	0,0846	4,2165	0,0366
Erro (a)	4	2,4338	-	0,4987	-
Tempo (t)	4	65,4974	<,0001	7,3537	<,0001
Interação (T * t)	8	0,7699	0,9629	0,0476	0,9753
Erro (b)	24	2,6623	-	0,1893	-
R ²	-	0,8470		0,9257	

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; p = probabilidade

A quantidade de nitrogênio solúvel em pH 4,6 e em TCA 12% foi aumentando ao longo do tempo de armazenamento, como mostram as Figuras 2 (1) e 2 (2). Este aumento da intensidade da proteólise ocorreu em consequência da ação da microbiota remanescente e do coagulante residual presente nos queijos. A proteólise foi menos pronunciada e ocorreu mais lentamente nos queijos submetidos à temperatura de cozimento mais elevada (50°C), que apresentaram menor teor de umidade.

A proteólise de maneira geral foi limitada, apesar da influência significativa da temperatura de cozimento e do tempo de armazenamento. Baixos índices de proteólise significam poucas alterações na textura e funcionalidade do queijo ao longo do tempo de armazenamento, o que é altamente desejável para esse tipo de queijo que deve apresentar textura firme e baixo derretimento.

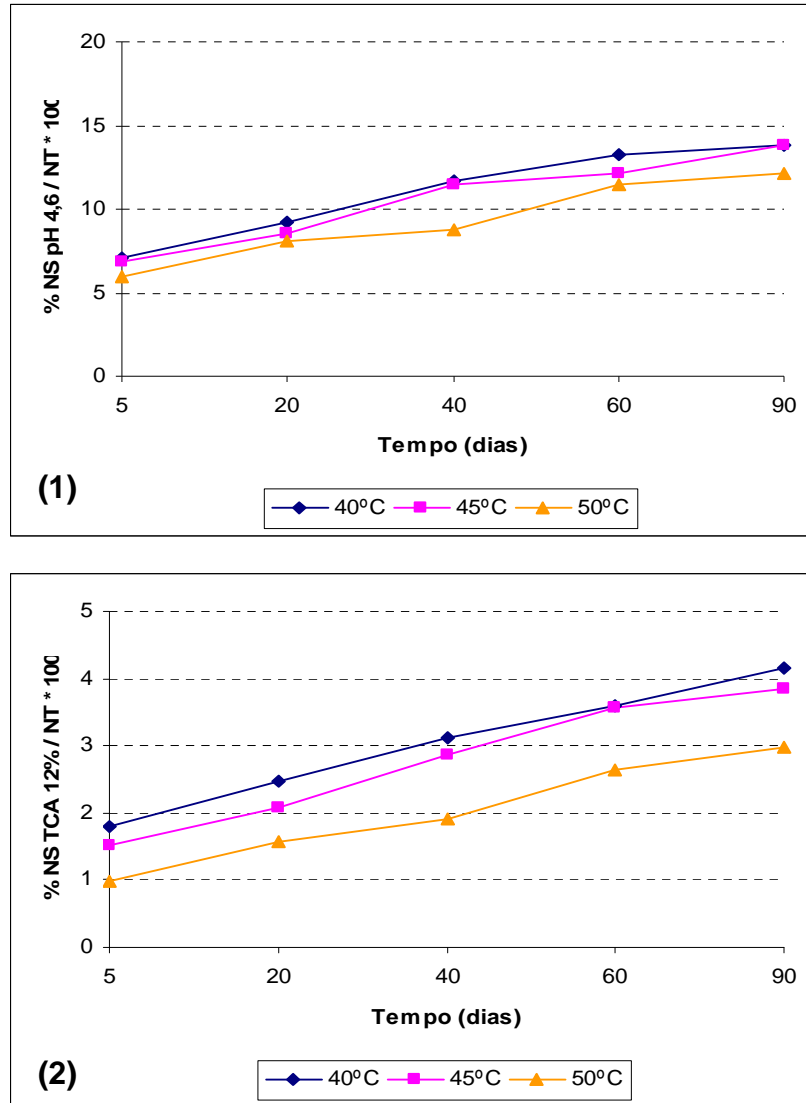


Figura 2. Evolução da proteólise, em porcentagem de nitrogênio solúvel a pH 4,6 / nitrogênio total e de nitrogênio solúvel em TCA 12% / nitrogênio total, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. (1) IEP e (2) IPP. ♦, 40°C (Q40); ■, 45°C (Q45) e ▲, 50°C (Q50).

3.4. Capacidade de derretimento e formação de óleo livre

A temperatura de cozimento e o tempo de armazenamento não exerceram influência significativa ($p < 0,05$) sobre a capacidade de derretimento e formação de óleo livre (Tabela 5).

A capacidade de derretimento dos queijos está diretamente ligada à proteólise. Neste estudo, como não houve adição de fermento láctico durante o

processamento e a proteólise foi baixa (Figura 2), a capacidade de derretimento se manteve constante ao longo do armazenamento, como mostra a Figura 3.

A formação de óleo livre pode estar relacionada com o tamanho dos glóbulos de gordura e com a proteólise dos queijos. A rede protéica atua como uma barreira física contra a coalescência dos glóbulos de gordura, porém quando esta rede é degradada a gordura flui e se separa em forma de óleo livre, durante o derretimento do queijo (TUNICK, 1994). Observa-se na Figura 4 que a quantidade de óleo livre foi baixa, independente da temperatura de cozimento e do tempo de armazenamento. O queijo cozido a 45°C apresentou maior porcentagem de gordura em base seca (49,39), diferindo significativamente do queijo cozido a 50°C (48,00), assim como a proteólise secundária foi menos intensa no Q50. Porém, estas diferenças não foram suficientes para afetar a formação de óleo livre ao longo do armazenamento refrigerado.

Tabela 5. Quadrados médios e probabilidades para capacidade de derretimento e formação de óleo livre dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C (n=3).

Fatores	GL	Derretimento		Óleo livre	
		QM	p	QM	p
Tratamento (T)	2	5,1815	0,3395	32,4869	0,1179
Erro (a)	4	3,6176	-	8,4924	-
Tempo (t)	4	4,2453	0,1929	2,4273	0,7811
Interação (T * t)	8	1,6534	0,7326	4,1415	0,6526
Erro (b)	24	2,5629	-	5,5635	-
R ²	-	0,5684		0,6321	

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; p = probabilidade

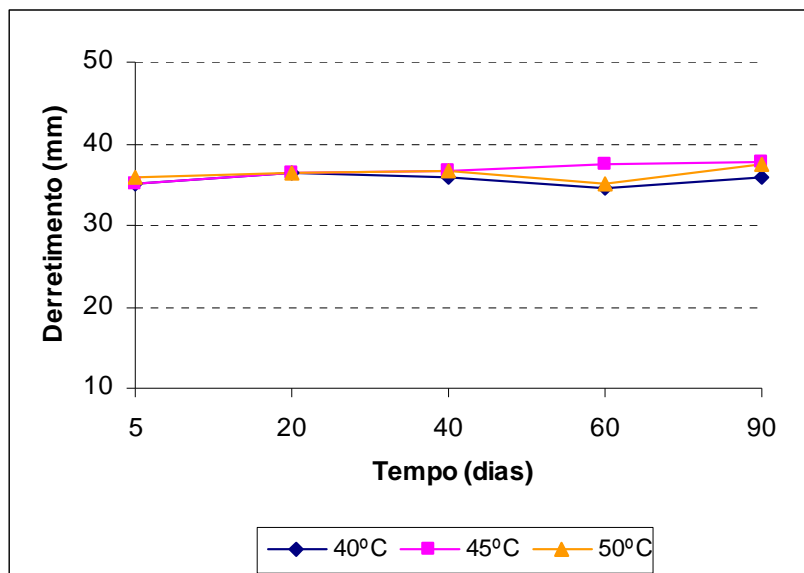


Figura 3. Evolução da capacidade de derretimento, em milímetros, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. ♦, 40°C (Q40); ■, 45°C (Q45) e ▲, 50°C (Q50).

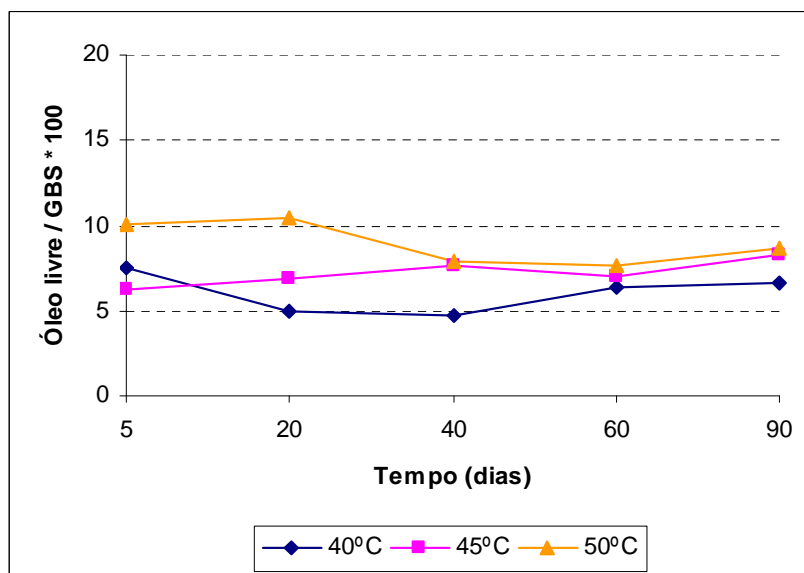


Figura 4. Formação de óleo livre, em porcentagem de óleo livre / GBS, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. ♦, 40°C (Q40); ■, 45°C (Q45) e ▲, 50°C (Q50).

3.5. Perfil de textura

A temperatura de cozimento afetou significativamente a dureza ($p=0,0274$), mas não afetou a mastigabilidade, elasticidade e coesividade dos queijos, como mostram os resultados das Tabelas 6 e 7. Houve diferença significativa com o tempo de armazenamento (Tabela 7) apenas para elasticidade ($p=0,0132$) e coesividade ($p<0,0001$).

A temperatura de cozimento afetou a dureza pelos efeitos indiretos na composição dos queijos. O Q50, que apresentou menor teor de umidade e maior porcentagem de proteína total foi o queijo com maior firmeza (Figura 5 (1)). Além disso, o aumento da temperatura de cozimento resultou em maior liberação de soro, o que, segundo Gunasekaran & Ak (2003a), implica em ligações hidrofóbicas mais extensas e maior interação entre as proteínas, contribuindo para aumentar a dureza do queijo. Tunick et al. (1993) também observaram um aumento na dureza do queijo Mussarela, quando foi aplicada uma maior temperatura de cozimento da massa (46°C).

Tabela 6. Quadrados médios e probabilidades para os parâmetros dureza e mastigabilidade dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C ($n=3$).

Fatores	GL	Dureza		Mastigabilidade	
		QM	p	QM	p
Tratamento (T)	2	2696630,61	0,0274	921006,79	0,0529
Erro (a)	4	267429,22	-	137551,39	-
Tempo (t)	4	110550,28	0,3817	36064,95	0,4368
Interação (T * t)	8	64450,41	0,7382	33073,91	0,5328
Erro (b)	24	100996,52	-	36788,58	-
R ²	-	0,7695		0,7989	

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; p = probabilidade

Observa-se nas Figuras 5 (1) e 5 (2) que tanto a dureza como a mastigabilidade do queijo mantiveram-se constantes ao longo do tempo de

armazenamento. Isso demonstra que, na prática, a proteólise, bastante limitada, não exerceu nenhuma influência sobre a dureza e mastigabilidade do queijo.

Tabela 7. Quadrados médios e probabilidades para os parâmetros elasticidade e coesividade dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C (n=3).

Fatores	GL	Elasticidade		Coesividade	
		QM	p	QM	p
Tratamento (T)	2	0,0001	0,4242	0,0006	0,7904
Erro (a)	4	0,0001	-	0,0024	-
Tempo (t)	4	0,0003	0,0132	0,0079	<,0001
Interação (T * t)	8	<,0001	0,8943	0,0002	0,9051
Erro (b)	24	<,0001	-	0,0006	-
R ²	-	0,5202		0,8499	

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; p = probabilidade

Ao longo do tempo, principalmente dos 60 aos 90 dias de armazenamento refrigerado, houve uma queda da elasticidade e coesividade dos queijos, como mostram as Figuras 5 (3) e 5 (4). A diminuição da elasticidade e coesividade com o tempo pode ser atribuída ao aumento da proteólise que causa a degradação da matriz protéica. Entretanto, apesar de estatisticamente significativa, essa variação da elasticidade e coesividade dos queijos com o tempo é desprezível do ponto de vista prático. Portanto, pode-se concluir que apesar das variações na umidade dos queijos, e da proteólise ao longo do tempo, em virtude da temperatura de cozimento aplicada, a textura não foi afetada negativamente. Todos os queijos, independente da temperatura de cozimento, mantiveram-se firmes, coesos e com a textura “borrachenta” característica, ao longo dos 90 dias de armazenamento.

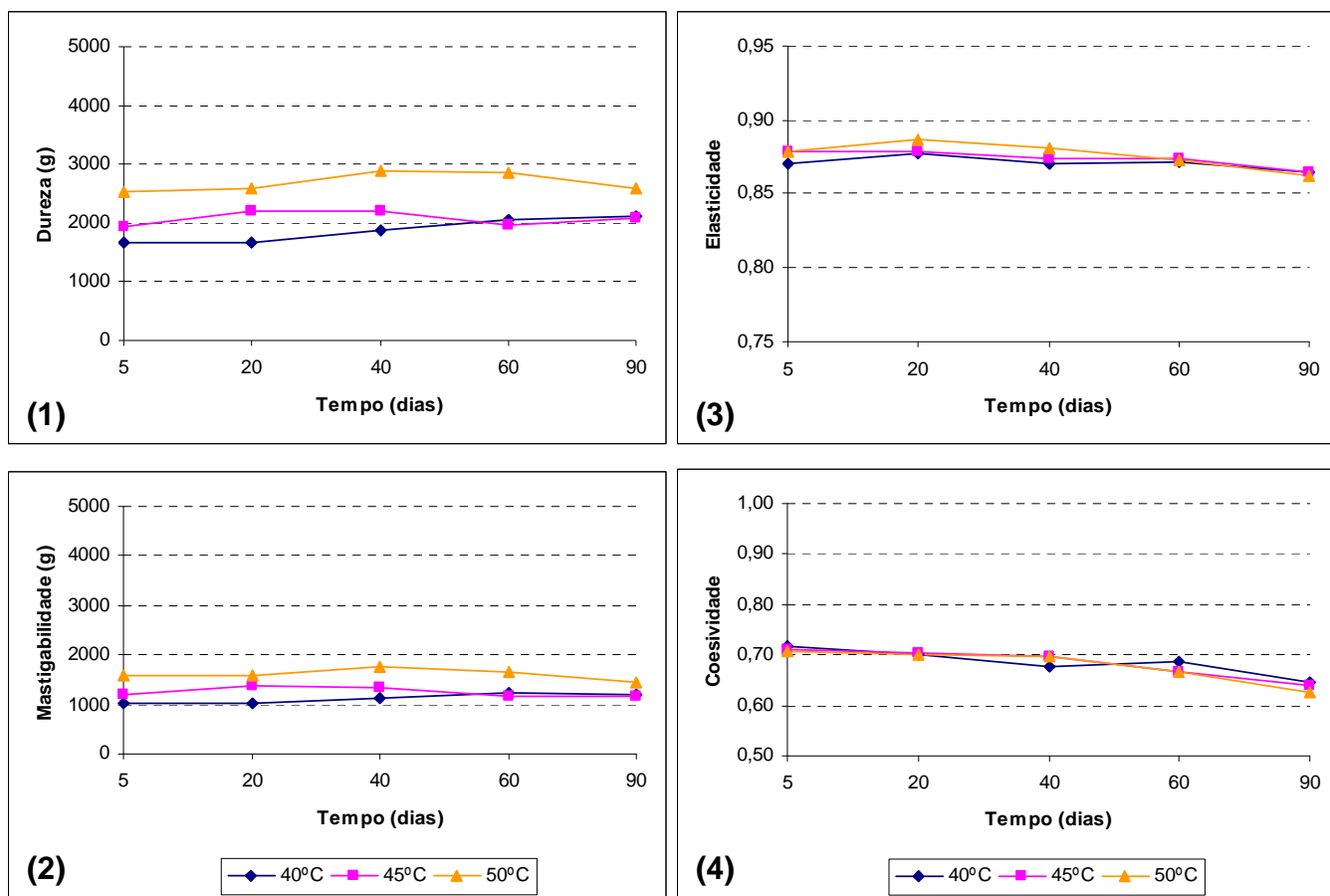


Figura 5. Acompanhamento do perfil de textura dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. (1) Dureza; (2) Mastigabilidade; (3) Elasticidade e (4) Coesividade. ♦, 40°C (Q40); ■, 45°C (Q45) e ▲, 50°C (Q50).

3.6. Avaliação da cor

3.6.1. Antes do derretimento (*in natura*)

A temperatura de cozimento da massa afetou significativamente ($p=0,0014$) a luminosidade (L^*) dos queijos, assim como os parâmetros a^* ($p=0,0066$) e b^* ($p=0,0024$) sofreram ação do tempo de armazenamento, nos queijos avaliados antes do derretimento, como pode ser observado na Tabela 8.

Na Figura 6 (1) se observa o efeito da temperatura de cozimento sobre o parâmetro L^* . O Q40 apresentou maior luminosidade, provavelmente por ser um

queijo menos amarelo, com alto teor de umidade, como consequência da menor temperatura de cozimento.

A evolução dos parâmetros a^* (eixo vermelho-verde) e b^* (eixo amarelo-azul), ao longo dos 90 dias, está ilustrada nas Figuras 6 (2) e 6 (3), respectivamente. Houve um aumento gradual na intensidade das cores vermelho e amarelo dos queijos, que pode ser explicado pela liberação de soro durante o armazenamento refrigerado. A perda de soro concentrou os componentes do queijo, como é o caso da gordura que tem como característica a cor amarela (beta-caroteno), alterando a sua cor. Como a cor do queijo é resultado da relação entre os parâmetros a^* e b^* , a intensidade do amarelo observado nos queijos, foi também em virtude dos valores de a^* .

Tabela 8. Quadrados médios e probabilidades para os parâmetros L^* , a^* e b^* da cor, antes do derretimento, dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C (n=3).

Fatores	GL	L^*		a^*		b^*	
		QM	p	QM	p	QM	p
Tratamento (T)	2	7,3342	0,0014	0,0132	0,8999	4,7667	0,1723
Erro (a)	4	0,1417	-	0,1154	-	1,6909	-
Tempo (t)	4	0,5319	0,1539	0,2084	0,0066	3,2739	0,0024
Interação (T * t)	8	0,1646	0,7922	0,0132	0,9621	0,2165	0,9255
Erro (b)	24	0,2889	-	0,0452	-	0,5828	-
R^2	-	0,7924		0,9517		0,9569	

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; p = probabilidade

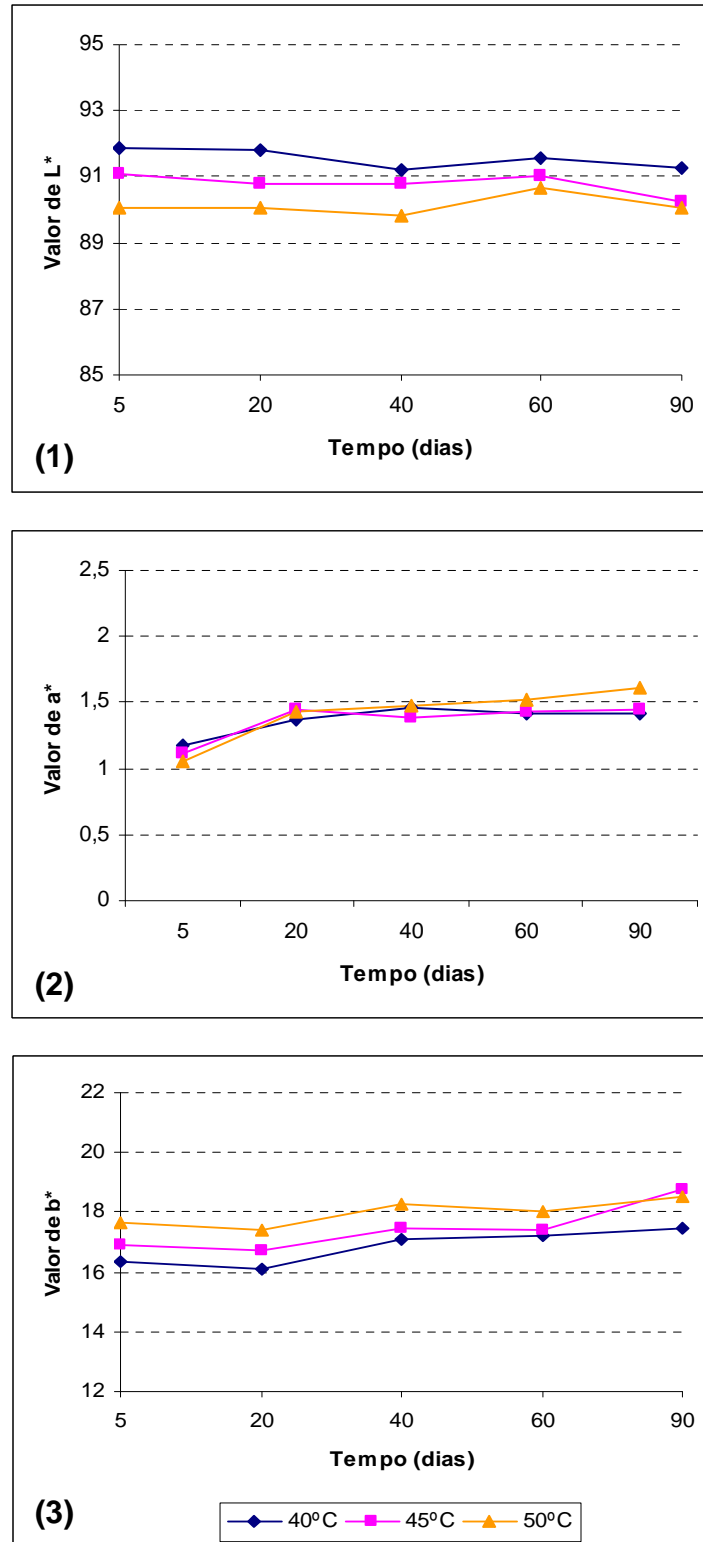


Figura 6. Avaliação da cor, antes do derretimento, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. Parâmetros L* (1); a* (2) e b* (3). ♦, 40°C (Q40); ■, 45°C (Q45) e ▲, 50°C (Q50).

3.6.2. Após o derretimento

Os dados da Tabela 9 mostram que a temperatura de cozimento da massa não afetou significativamente ($p < 0,05$) a cor dos queijos após o derretimento, porém, o tempo de armazenamento afetou os parâmetros L^* ($p = 0,0197$), a^* e b^* ($p < 0,0001$).

L^* , a^* e b^* aumentaram com o tempo, conforme ilustrado nas Figuras 7 (1), 7 (2) e 7 (3). Após o derretimento os queijos apresentaram cor “dourada”, representada pelo aumento da intensidade das cores vermelha e amarela. Isso pode ser explicado pela proteólise e pela reação de Maillard. A reação de Maillard ocorre em presença de aminoácido (liberado pela proteólise secundária) e de açúcar redutor (lactose), formando pigmentos amarronzados, chamados melanoidinas. O aspecto “dourado” (melanoidinas) do queijo de coalho grelhado é um atributo considerado desejável pelo consumidor.

Tabela 9. Quadrados médios e probabilidades para os parâmetros L^* , a^* e b^* da cor, após o derretimento, dos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado a 4°C ($n=3$).

Fatores	GL	L^*		a^*		b^*	
		QM	p	QM	p	QM	p
Tratamento (T)	2	104,4235	0,0595	0,5081	0,6219	80,2516	0,1234
Erro (a)	4	16,8474	-	0,9476	-	21,7308	-
Tempo (t)	4	10,4529	0,0197	0,8624	<,0001	22,6703	<,0001
Interação (T * t)	8	4,2146	0,2281	0,1191	0,2528	2,6663	0,3893
Erro (b)	24	2,9112	-	0,0860	-	2,3955	-
R^2	-	0,8925		0,9559		0,9473	

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; p = probabilidade

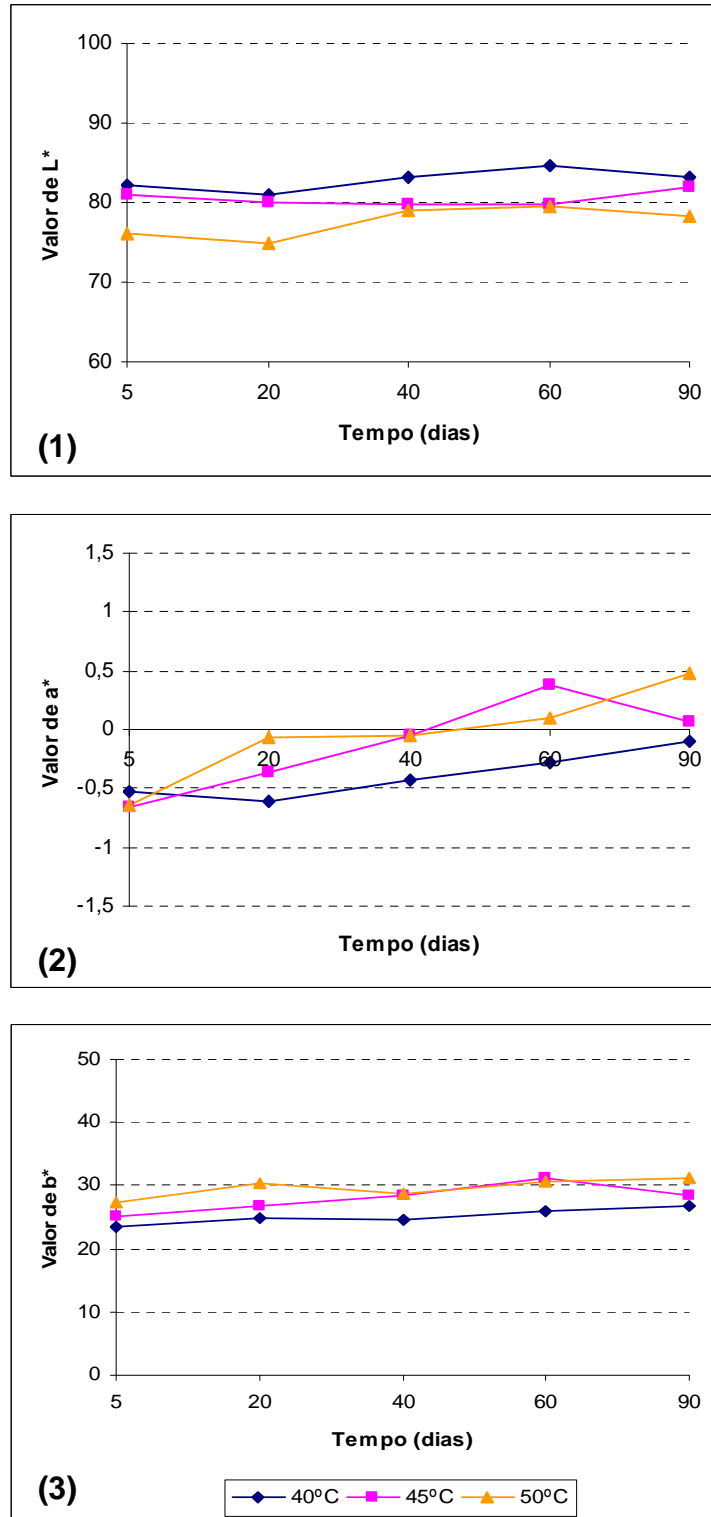


Figura 7. Avaliação da cor, após o derretimento, dos queijos de coalho durante os 90 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. Parâmetros L* (1); a* (2) e b* (3). ♦, 40°C (Q40); ■, 45°C (Q45) e ▲, 50°C (Q50).

4. CONCLUSÃO

O aumento da temperatura de cozimento da massa resultou em aumento da sinérese, redução da umidade, aumento da proteína, afetando a profundidade da proteólise e a dureza dos queijos. Ao longo do armazenamento refrigerado houve queda do pH, aumento da proteólise e diminuição da elasticidade; além disso os queijos apresentaram aumento da coloração amarronzada característica após o derretimento. Não houve influência da temperatura de cozimento e do tempo de armazenamento sobre a capacidade de derretimento e óleo livre, o que é desejável no queijo de coalho, consumido na forma grelhada.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16 ed., Arlington: AOAC, 1995.

BARBANO, D.M.; CHU, K.Y.; YUN, J.J.; KINDSTEDT, P.S. Contributions of coagulant, starter and milk enzymes to proteolysis and browning in Mozzarella cheese. In: **Annual Marshall Italian Cheese Seminar**, Madison. Proceedings. p.41-50, 1993.

BYNUM, D. G.; D. M. BARBANO. Whole milk reverse osmosis retentates for Cheddar cheese manufacture: Chemical changes during aging. **Journal of Dairy Science**, n.68, p.1-10, 1985.

FAGAN, C.C.; CASTILLO, M.; PAYNE, F.A.; O'DONNELL, C.P.; O'CALLAGHAN, D.J. Effect of cutting time, temperature, and calcium on curd moisture, whey fat

losses, and curd yield by response surface methodology. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.10, p. 4499-4512, 2007.

GHOSH, B.C.; SINGH, S.; KANAWJIA, S.K. Rheological properties of Mozzarella cheese (review). **Indian Journal of Dairy Science**, v.43, n.1, p.71-80, 1990.

GUNASEKARAN, S.; AK, M.M. Cheese texture, in **Cheese Rheology and Texture**. Washington, DC: CRC, 437p, 2003a.

GUNASEKARAN, S.; AK, M.M. Factors affecting properties of cheese, in **Cheese Rheology and Texture**. Washington, DC: CRC, 437p, 2003b.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. D.B. Rebocho: São Paulo, 1985.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Determination of the total solids content of cheese and processed cheese**. IDF-FIL., n.88, p.1-3, 1979.

KINDSTEDT, P.S.; FOX, P.F. Modified Gerber test for free oil in melted Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v.56, n.4, p.1115-1116, 1991.

KOSIKOWSKI, F. V.; MISTRY, V.V. **Cheese and fermented milk foods**. 3 ed., Westport: AVI, 1997. 728p.

LUCEY, J.A.; JOHNSON, M.E.; HORNE, D.S. Invited review: Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.9, p.2725-2743, 2003.

MARSHALL, R.T. Standard methods for the examination of dairy products. 16 ed., Washington, DC: **American Public Health Association**, 546p, 1992.

MCSWEENEY, P.L.H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v.57, n.2/3, p.127-144, 2004.

PEREZ, R.M. **Perfil sensorial, físico-químico e funcional de queijo de coalho comercializado no município de Campinas, SP**. 2005. 140 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

TUNICK, M.H. Effects of homogenization and proteolysis on free-oil in Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, n.77, p.2487–2493, 1994.

TUNICK, M.H.; MACKEY, K.L.; SHIEH, J.J.; SMITH, P.H.; COOKE, P.; MALIN, E.L. Rheology and microstructure of low-fat Mozzarella cheese. **International Dairy Journal**, v.3, n.7, p.649–662, 1993.

CAPÍTULO III

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE COZIMENTO NO DESENVOLVIMENTO DE *ENTEROCOCCUS* E NA PRODUÇÃO DE DIACETIL EM QUEIJO DE COALHO

A ser submetido à revista “International Journal of Food Microbiology”

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE COZIMENTO NO DESENVOLVIMENTO DE *ENTEROCOCCUS* E NA PRODUÇÃO DE DIACETIL EM QUEIJO DE COALHO

Influence of cooking temperature on the development of enterococci and on the production of diacetyl of “queijo de coalho”

Priscila Lourenzon Mamede¹; Juliana Miguel Perri¹; Arnaldo Yoshiteru Kuaye¹;
Walkiria Hanada Viotto^{1*}

¹ Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Rua Monteiro Lobato, 80, Cidade Universitária Zeferino Vaz, CP 6121, Campinas, SP, 13083-862.

* A quem a correspondência deve ser enviada. walkiria@fea.unicamp.br

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de três diferentes temperaturas (40, 45 e 50°C) de cozimento da massa no desenvolvimento de *Enterococcus* e bactérias lácticas e na produção de diacetil / acetoína durante a fabricação e armazenamento refrigerado do queijo de coalho. Temperaturas mais brandas de cozimento (40-45°C) resultaram em queijos com maior acidez, maior umidade e menor relação sal/umidade. A etapa de cozimento da massa favoreceu o desenvolvimento de enterococos, porém a salga não exerceu influência significativa sobre este crescimento. A população de *Enterococcus* dos queijos de coalho aumentou ao longo do armazenamento refrigerado. Independente da temperatura de cozimento utilizada na fabricação do queijo, um pico máximo de produção de diacetil / acetoína foi observado no 34º dia de armazenamento refrigerado, com queda até o 59º dia de armazenamento.

Palavras-chave: queijo de coalho, cozimento da massa, *Enterococcus*, diacetil, armazenamento.

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the influence of three different curd cooking temperatures (40, 45 and 50°C) on the development of *Enterococcus* and lactic bacteria and on the production of diacetyl/acetoin during the manufacture and refrigerated storage of “queijo de coalho”. Milder cooking temperatures (40-45°C) resulted in cheeses with greater acidity, greater moisture content and lower salt/moisture content ratio. The curd cooking step favored development of the enterococci, and salting exerted no significant influence on this growth. The *Enterococcus* population in the “queijos de coalho” increased during refrigerated storage. Independent of the cooking temperature used in cheese manufacture, a maximum peak in diacetyl/acetoin production was observed on the 34th day of refrigerated storage, then falling up to the 59th day of storage.

Keywords: “queijo de coalho”, curd cooking, *Enterococcus*, diacetyl, storage.

1. INTRODUÇÃO

O queijo de coalho, fabricado na região Sudeste do Brasil, é destinado principalmente ao consumo na forma grelhada, em espetos para churrasco e produzido a partir de leite pasteurizado. A textura elástica ou “borrachenta” e a baixa capacidade de derretimento são os principais atributos do queijo de coalho na forma grelhada, mas o sabor também desempenha um papel importante. O sabor e aroma de manteiga são características marcantes em queijo de coalho grelhado, e foram determinantes para a preferência dos consumidores, em testes sensoriais realizados em queijos comerciais (PEREZ, 2005).

As bactérias do gênero *Enterococcus* foram a microbiota dominante de queijos de coalho artesanais (CAVALCANTE et al, 2007; CARVALHO et al., 2005) e industrializados (PERRI et al., 2007) que apresentavam sabor e aroma de manteiga. Apesar do pequeno número de trabalhos sobre o metabolismo dos

enterococos envolvendo os compostos do leite, é sabido que as bactérias deste gênero são capazes de metabolizar o lactato e o citrato, presentes naturalmente nos queijos, em compostos aromáticos, como o diacetil e a acetoína. O diacetil é o principal responsável pelo aroma de manteiga, em produtos lácteos, em especial os queijos, sendo 100 vezes mais forte que o aroma da acetoína (CURIONI & BOSSET, 2002). Centeno (1999) encontrou um teor de até 247 mg de diacetil / acetoína por quilo de queijo Cebreiro, produzido com cepas de *Enterococcus faecalis* var. *liquefaciens*.

Como o aroma e o sabor de manteiga estão diretamente relacionados com o diacetil, e o *Enterococcus* é a microbiota dominante dos queijos de coalho industrializados, é provável que o aroma de manteiga mais intenso esteja associado a uma maior viabilidade de *Enterococcus* durante o tempo de armazenamento. Giraffa (2003) também encontrou evidências que eles possam contribuir positivamente para o desenvolvimento de sabor durante a maturação.

O cozimento da massa e a salga são duas das etapas de fabricação do queijo de coalho que afetam a composição e a estrutura do queijo. Além disso, esses tratamentos também podem contribuir para selecionar os *Enterococcus*, uma vez que as espécies desse gênero toleram altas concentrações de sal, resistem a temperaturas elevadas e ao abaixamento do pH.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento das bactérias do gênero *Enterococcus* durante as etapas de fabricação do queijo e verificar a influência da temperatura de cozimento no teor de diacetil / acetoína nos queijos de coalho, durante o armazenamento refrigerado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Fabricação do queijo de coalho

Leite cru (400 litros), proveniente de uma cooperativa local, foi padronizado (relação caseína:gordura = $0,83 \pm 0,04$) para se obter uma composição química homogênea. O leite foi, então, submetido à pasteurização (72-73°C por 15

segundos) em trocador de calor a placas, resfriado a 4°C, separado em três porções iguais de 133 litros e mantido em câmara fria, durante uma noite.

No dia seguinte, três bateladas de queijo foram fabricadas a diferentes temperaturas de cozimento da massa (40, 45 e 50°C). A ordem de fabricação foi previamente aleatorizada. A fabricação dos queijos foi replicada em três datas diferentes, o que resultou em nove experimentos. Utilizou-se um tanque de queijo automático (Biosinox, Lambari, MG, Brasil) com capacidade para 150 litros, composta de lira para corte e agitação ajustável. O leite foi inicialmente aquecido a 37°C e adicionou-se, a seguir, cloreto de cálcio (250 mg/L), ácido láctico (250 mg/L; Chemco Ind. Com. Ltda., Campinas, SP, Brasil), e coalho bovino em pó (Chr. Hansen, Valinhos, SP, Brasil). Após verificação do ponto de corte (35 minutos), o gel foi cortado em cubos, com cerca de 0,5 cm de aresta, e a mistura coágulo/soro permaneceu sob agitação por 5 minutos. Em seguida, iniciou-se o tratamento da massa, através de mexedura e aquecimento indireto, elevando 1°C a cada 2 minutos, até alcançar as temperaturas de 40 (Q40), 45 (Q45) e 50°C (Q50), permanecendo em agitação, nas respectivas temperaturas, por 10 minutos. Após esta etapa, procedeu-se a dessoragem parcial e a salga na massa (2,7% do volume de leite), com agitação de 1 minuto para incorporação do sal. Foi realizada a dessoragem final e a massa foi distribuída em formas retangulares de 1 kg e encaminhada para a prensa. A prensagem se deu da seguinte forma: 15 kg durante 30 minutos e, após inversão, 30 kg durante 16 horas. Os queijos, depois de permanecerem 24 horas a 10°C, foram pesados, embalados a vácuo em sacos plásticos, e armazenados a 4°C durante 90 dias. Cada unidade foi enumerada e submetida a um sorteio para a realização das análises

2.2. Amostragem

A coleta de amostras para avaliar a composição dos queijos foi realizada no 5º dia após o processamento. Para constituição de uma amostra representativa, um queijo foi aleatoriamente escolhido, cortado em cubos e triturado em multiprocessador até obtenção de partículas de 2-3 mm. O material, assim obtido,

foi homogeneizado manualmente e acondicionado em frascos de vidro. As amostras foram mantidas sob refrigeração (4°C) até o momento das análises.

Aos 4, 7, 13, 20, 34, 42 e 59 dias de armazenamento refrigerado, os queijos foram submetidos ao mesmo procedimento de amostragem para a avaliação do teor de diacetil / acetoína.

As análises microbiológicas foram realizadas no leite cru, leite pasteurizado, massa antes e após cozimento, massa após salga, e queijos com 5, 20, 40, 60 e 90 dias de armazenamento. Amostras representativas do leite cru foram coletadas e mantidas em frascos estéreis, destinadas à realização das análises microbiológicas. O mesmo procedimento foi utilizado para coleta de amostras do leite pasteurizado e da massa de queijo.

2.3. Composição do queijo

Mudanças no pH e acidez titulável do leite, soro e queijo foram monitoradas durante a fabricação do queijo e durante o tempo de armazenamento refrigerado. O pH foi determinado através do método potenciométrico, conforme AOAC 935.17 (1995) e a determinação da acidez titulável de acordo com Marshall (1992). O extrato seco total (EST) foi determinado por gravimetria, segundo o método da AOAC 925.23 (1995). Para a determinação de gordura utilizou-se o método de Gerber (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). O nitrogênio total (NT) foi obtido pelo método de macro-Kjeldhal, conforme descrito na AOAC 991.20 (1995). O teor de sal foi avaliado através do método de Volhard (IDF, 1979). Todas as análises de composição foram realizadas em triplicata.

2.4. Análises microbiológicas

2.4.1. Preparo das amostras

Para as análises microbiológicas do leite, uma alíquota de 10 ml foi transferida para um frasco contendo 90 ml de solução de água peptonada 0,1%, obtendo-se assim a diluição 10^{-1} . A partir desta foram feitas as diluições subsequentes necessárias à realização das análises.

Os queijos foram aleatoriamente escolhidos após 5, 20, 40, 60, e 90 dias de armazenamento refrigerado. Foram retiradas três fatias (com aproximadamente 1 cm de espessura) representativas de todo o queijo. As fatias foram cortadas em pequenos cubos e estes foram devidamente homogeneizados. Pesou-se 25 g da amostra (queijo ou massa) em saco para Stomacher e adicionou-se 225 ml de citrato de sódio 2%. A mistura foi homogeneizada por 60 segundos e imediatamente utilizada para as análises. A partir desta diluição inicial foram preparadas as diluições subsequentes em água peptonada.

2.4.2. Contagem de bactérias lácticas

A contagem foi feita em ágar *Man, Rogosa e Sharpe* (MRS, Difco, Sparks, USA), pelo método de plaqueamento em profundidade, incubando as placas a 32°C por 48 horas (APHA, 1992).

2.4.3. Contagem de *Enterococcus*

A contagem de *Enterococcus* foi determinada após plaqueamento diferencial em ágar Kenner Fecal (KF, Difco, Sparks, USA) *Streptococcus*, com incubação a 45°C por 48 horas. Após o crescimento, colônias típicas foram selecionadas aleatoriamente e confirmadas através de teste de catalase, coloração de Gram, plaqueamento em ágar Bile Esculina (Difco, Sparks, USA), capacidade de crescimento em NaCl 6,5%, pH 9,6 e sob temperaturas de 10 e 45°C (APHA, 1992).

2.5. Determinação de diacetil / acetoína

O teor de diacetil / acetoína foi determinado por colorimetria conforme descrito em IDF 149A (1997). O método baseia-se na precipitação da gordura e da proteína com tungstato de sódio e ácido sulfúrico, e na reação do filtrado com creatina e alfa-naftol. A absorbância foi medida a 525 nm, sendo o resultado expresso em mg de diacetil / acetoína por kg de queijo.

2.6. Delineamento experimental e análise estatística dos resultados

O delineamento experimental utilizado foi do tipo aleatorizado em blocos. O fator estudado foi a temperatura de cozimento da massa do queijo (T), com três níveis de variação (40, 45 e 50°C). Os três ensaios foram realizados em triplicata, totalizando 9 experimentos. Os resultados de composição físico-química e a contagem de *Enterococcus* e bactérias lácticas durante as etapas de fabricação do queijo foram analisados através de Análise de Variância (ANOVA). As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey, para verificar diferenças entre as médias, utilizando o procedimento PROC ANOVA, do programa SAS[®]. Para a avaliação da contagem de *Enterococcus*, bactérias lácticas e produção de diacetil / acetoína do queijo foi adotado o delineamento do tipo split-plot, sendo que a sub-parcela foi obtida pela incorporação do fator tempo de armazenamento refrigerado (t). As contagens de *Enterococcus* e bactérias lácticas do queijo foram realizadas nos dias 5, 20, 40, 60 e 90 e a produção de diacetil / acetoína nos dias 4, 7, 13, 20, 34, 42 e 59 de armazenamento refrigerado. O teste F-ANOVA foi usado para testar as diferenças entre tratamentos, entre tempos de armazenamento refrigerado e a interação tratamento *versus* tempo, utilizando o procedimento PROC GLM, do programa SAS[®].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Influência da temperatura de cozimento na composição dos queijos

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados de composição dos queijos de coalho fabricados a diferentes temperaturas de cozimento da massa, com 5 dias de fabricação.

A temperatura de cozimento dos queijos afetou significativamente a composição dos queijos, principalmente com relação ao teor de umidade e proteína ($p < 0,0001$). Quanto maior foi a temperatura de cozimento da massa, menor foi o teor de umidade, maior o teor de proteína e sal/umidade.

Tabela 1. Composição média dos queijos de coalho (n=3), elaborados a diferentes temperaturas de cozimento da massa, equivalentes a: 40°C (Q40), 45°C (Q45) e 50°C (Q50).

Componente	Tratamentos*		
	Q40	Q45	Q50
pH	6,62 ^b	6,62 ^b	6,66 ^a
Acidez (% ác. láctico)	0,14 ^a	0,13 ^{ab}	0,12 ^b
Umidade (%)	52,37 ^a	48,98 ^b	45,98 ^c
Gordura (%)	23,28 ^b	25,22 ^a	25,89 ^a
Proteína (%)	18,36 ^c	20,21 ^b	21,60 ^a
Sal (%)	2,75 ^a	2,55 ^a	2,68 ^a
S/U **	5,24 ^b	5,21 ^b	5,81 ^a

*a,b,c – médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si (p<0,05). ** Relação sal:umidade.

3.2. Influência da temperatura de cozimento no desenvolvimento de *Enterococcus* e bactérias lácticas do queijo de coalho

3.2.1. Durante a fabricação

Na Tabela 2 são apresentados os resultados da contagem de *Enterococcus* e das bactérias lácticas ao longo das etapas de fabricação do queijo de coalho.

Os enterococos foram encontrados em alta proporção no leite pasteurizado (Tabela 2). A etapa de cozimento da massa favoreceu significativamente o crescimento de enterococos (p<0,05), com aumento de mais de 1 ciclo logarítmico para todos os queijos, independente da temperatura de cozimento utilizada na fabricação do queijo. A salga não afetou significativamente o número de enterococos (p<0,05), que se manteve constante, na faixa de 10⁴ ufc/g.

As etapas que envolvem tratamento térmico, como a pasteurização e o cozimento da massa, parecem favorecer o desenvolvimento e a predominância do enterococos no queijo. A maioria das bactérias do gênero *Enterococcus* resiste ao tratamento de 62,8°C por 30 minutos (GIRAFFA, 2003), o que sugere ter havido

uma seleção dessas bactérias nas etapas de pasteurização e cozimento da massa em relação às outras bactérias lácticas.

Tabela 2. Contagem média de *Enterococcus* (log ufc g⁻¹) e bactérias lácticas (log ufc g⁻¹) durante as etapas de fabricação do queijo de coalho (n=3).

Etapa	<i>Enterococcus</i> *			Bactérias lácticas		
	Q40	Q45	Q50	Q40	Q45	Q50
Pasteurização ¹		2,71 ^b			3,12 ^a	
Cozimento ²	3,90 ^a	4,05 ^a	4,07 ^a	4,61 ^a	4,62 ^a	4,49 ^a
Salga ³	3,94 ^a	4,10 ^a	4,10 ^a	4,59 ^a	4,49 ^a	4,59 ^a

¹leite após pasteurização; ²massa após cozimento; ³massa após salga.

*a,b - médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si (p<0,05).

3.2.2. Durante o armazenamento

Pelos resultados da Tabela 3 observa-se que a variação da temperatura de cozimento não influenciou o desenvolvimento de enterococos (p=0,4019) e bactérias lácticas (p=0,3190). No entanto, houve um aumento da contagem de *Enterococcus* e bactérias lácticas ao longo do armazenamento refrigerado (p<0,0001) (Figura 1 e Figura 2).

Tabela 3. Quadrados médios e probabilidades para contagem de enterococos e bactérias lácticas durante o armazenamento refrigerado a 4°C (n=3).

Fatores	GL	<i>Enterococcus</i>		Bactérias lácticas	
		QM	p	QM	p
Tratamento (T)	2	1,6054	0,4019	1,8525	0,3190
Erro (a)	4	1,3900	-	1,2019	-
Tempo (t)	4	1,6179	<,0001	2,4423	<,0001
Interação (T * t)	8	0,1397	0,3138	0,0738	0,9004
Erro (b)	24	0,1117	-	0,1778	-
R ²	-	0,8677		0,8277	

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; p = probabilidade.

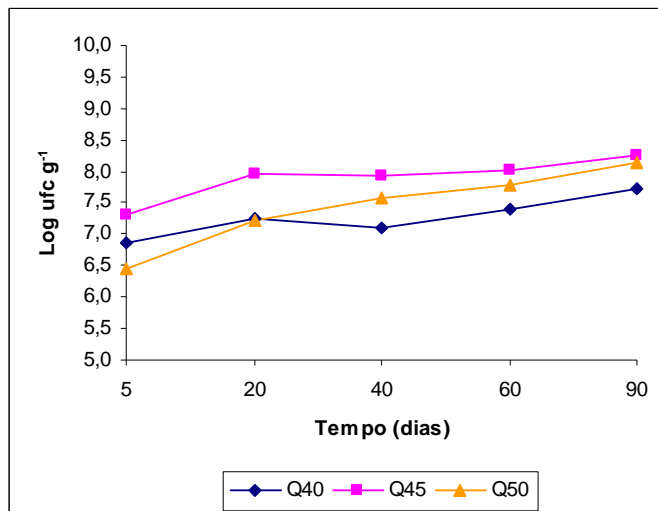


Figura 1. Evolução da contagem de *Enterococcus* (log ufc g⁻¹) dos queijos de coalho ao longo do armazenamento refrigerado a 4°C. ♦, 40°C (Q40); ■, 45°C (Q45) e ▲, 50°C (Q50).

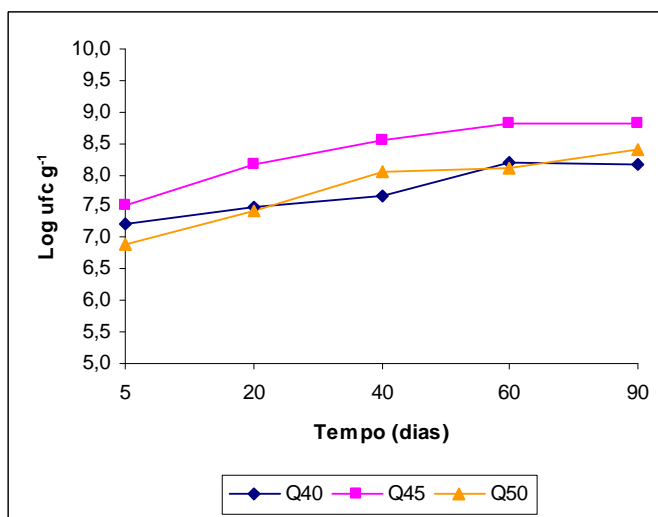


Figura 2. Evolução da contagem de bactérias lácticas (log ufc g⁻¹) dos queijos de coalho ao longo do armazenamento refrigerado a 4°C. ♦, 40°C (Q40); ■, 45°C (Q45) e ▲, 50°C (Q50).

Os níveis de *Enterococcus* no leite pasteurizado, massa após cozimento, queijo fresco e queijo após 90 dias de armazenamento foram respectivamente de cerca de 3, 4, 7 e 8 log ufc/g (Tabela 2 e Figura 1). A persistência e predominância dos enterococos ao longo dos 90 dias de armazenamento podem

ser atribuídas à sua capacidade de desenvolvimento em ampla faixa de temperatura. Além disso, os *Enterococcus* são altamente resistentes a variações no pH e toleram altas concentrações de sal (6,5%) dos queijos (GIRAFFA, 2003; ROGINSKI, 2002).

3.3. Produção de diacetil / acetoína

A temperatura de cozimento não influenciou ($p=0,4720$) o teor de diacetil / acetoína dos queijos, mas houve variação na produção de diacetil com o tempo de armazenamento ($p=0,0002$), como se observa na Tabela 4.

Tabela 4. Quadrados médios e probabilidades para o teor de diacetil / acetoína, durante o armazenamento refrigerado a 4°C de queijo de coalho (n=3).

Fatores	GL	Diacetil / acetoína	
		QM	p
Tratamento (T)	2	16853,7599	0,4720
Erro (a)	4	18499,1874	-
Tempo (t)	6	53032,1631	0,0002
Interação (T * t)	12	3267,5483	0,9626
Erro (b)	36	8616,0917	-
R ²	-	0,6405	

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; p = probabilidade.

Na Figura 3 observa-se a evolução do diacetil / acetoína nos queijos de coalho armazenados durante 59 dias sob refrigeração. Apesar de não significativo do ponto de vista estatístico, o queijo cozido a 45°C, apresentou valores superiores de diacetil/acetoína, atingindo aproximadamente 300 mg de diacetil / acetoína por quilo de queijo de coalho. A mesma tendência também pode ser observada no desenvolvimento do *Enterococcus* e bactérias lácticas durante o tempo de armazenamento. O Q45 também apresentou uma contagem mais elevada de *Enterococcus* e bactérias lácticas, em relação ao Q40 e o Q50, como pode ser observado nas Figuras 1 e 2. Isso pode ser uma indicação de que a 45°C

haja seleção e favorecimento de cepas de *Enterococcus* e bactérias lácticas produtoras de diacetil.

Ao longo do armazenamento refrigerado, os queijos apresentaram comportamento similar, com relação à produção de diacetil / acetoína, com aumento até o dia 13 e queda no 20º dia de armazenamento (Figura 3). Este comportamento também foi observado por Menéndez et al. (2000), ao avaliar o teor de diacetil / acetoína em queijo Arzúa-Ulloa. Independente da temperatura de cozimento utilizada na fabricação do queijo, um pico de produção de diacetil / acetoína ocorreu no 34º dia, com queda pronunciada até o 59º dia de armazenamento refrigerado (Figura 3).

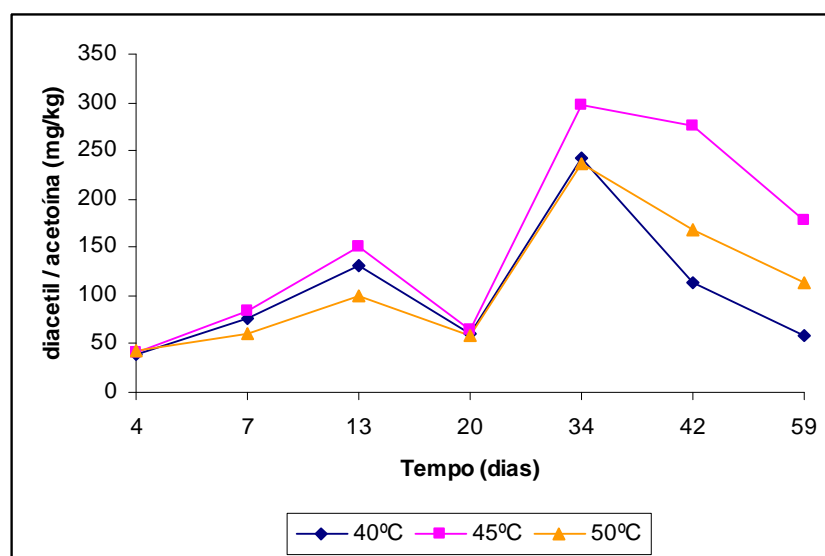


Figura 3. Evolução de teor de diacetil / acetoína (mg/kg) dos queijos de coalho ao longo do armazenamento refrigerado a 4°C. ♦, 40°C; ■, 45°C e ▲, 50°C.

4. CONCLUSÃO

O crescimento de *Enterococcus* e bactérias lácticas foi favorecido pelo cozimento da massa, mas não foi afetado pela variação da temperatura de cozimento. O número de enterococos e bactérias lácticas e a produção de diacetil/acetoína aumentaram significativamente com o tempo de armazenamento refrigerado dos queijos de coalho. Estes resultados evidenciam que a produção de

diacetil/acetoína, e o consequente sabor e aroma de manteiga no queijo de coalho, pode estar associada ao desenvolvimento de *Enterococcus*.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3 ed., Edwards Brothers, Washington, DC: APHA, 1219p, 1992.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16 ed., Arlington: AOAC, 1995.

CARVALHO, J.D.G.; BRUNO, L.M.; NASSU, R.T.; LIMA, C.P.; VASCONCELOS, N.M.; KUAYE, A.Y. Bactérias ácido lácticas isoladas de queijos de coalho artesanais comercializados em Fortaleza, CE. **Revista Instituto de Laticínio Cândido Tostes**. v.60, n.345, p.221-224, 2005.

CAVALCANTE, J.F.M.; ANDRADE, N.J.; FURTADO, M.M.; FERREIRA, C.L.L.F.; PINTO, C.L.O.; ELARD, E. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, n.1; p.205-214; 2007.

CENTENO, J.A.; MENÉNDEZ, S.; HERMIDA, M.A.; RODRÍGUEZ-OTERO, J.L. Effects of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture. **International Journal of Food Microbiology**. n.48, p.97-111, 1999.

CURIONI, P.M.G.; BOSSET, J.O. Review: key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. **International Dairy Journal**. v.12; p.959-984, 2002.

GIRAFFA, G. Funcionalidade de enterococos em produtos lácteos. **International Journal of Food Microbiology**. v.88, p.215-222, 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. D.B. Rebocho ed. São Paulo, 1985.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Dairy starter cultures of lactic acid bacteria (LAB)**. Standard of Identity. Brussels. n.149A, 1997.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Determination of the total solids content of cheese and processed cheese**. IDF-FIL., n.88, p.1-3, 1979.

MARSHALL, R.T. Standard methods for the examination of dairy products. 16 ed., Washington, DC: **American Public Health Association**, 546p, 1992.

MENÉNDEZ, S.; CENTENO, J.A.; GODÍNEZ, R.; RODRÍGUEZ-OTERO, J.L. Effect of *Lactobacillus* strains on the ripening and organoleptic characteristics of Arzúa-Ulloa cheese. **International Journal of Food Microbiology**. v.59, p.37-46, 2000.

PEREZ, R.M. **Perfil sensorial, físico-químico e funcional de queijo de coalho comercializado no município de Campinas, SP**. 2005. 140 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PERRI, J.M.; PITON, M.A.J.; ROSADO, M.S.; MAMEDE, P.L.; KUAYE, A.Y.; VIOTTO, W.H. Caracterização de propriedades tecnológicas de bactérias do

gênero *Enterococcus* isoladas de queijo de coalho. In: Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. **Anais do 7º SLACA**, Campinas, CD-ROM, 2007.

ROGINSKI, H.; FUQUAY, J.W.; FOX, P.F. *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. In: **Encyclopedia of Dairy Science**. v.2, 2002, 1279p.

CAPÍTULO IV

INFLUÊNCIA DO COZIMENTO DA MASSA NA ACEITAÇÃO SENSORIAL DO QUEIJO DE COALHO GRELHADO

A ser submetido à revista “Scientia Agricola”

INFLUÊNCIA DO COZIMENTO DA MASSA NA ACEITAÇÃO SENSORIAL DO QUEIJO DE COALHO GRELHADO

Influence of curd cooking on the sensory acceptance of the grilled “queijo de coalho”

Priscila Lourenzon Mamede¹; Walkiria Hanada Viotto^{1*}

¹ Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Rua Monteiro Lobato, 80, Cidade Universitária Zeferino Vaz, CP 6121, Campinas, SP, 13083-862. E-mail: walkiria@fea.unicamp.br

* A quem a correspondência deve ser enviada.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da temperatura de cozimento da massa (40, 45 e 50°C) na aceitação sensorial e intenção de compra do queijo de coalho. O teste foi aplicado a 101 provadores não treinados que avaliaram os queijos grelhados, com 34 dias de armazenamento refrigerado. Os atributos analisados foram aparência, aroma, sabor, textura e intenção de compra. O queijo fabricado com temperatura de cozimento de 50°C se destacou por apresentar maiores médias em todas as características sensoriais avaliadas, sendo o queijo preferido pelos consumidores.

Palavras-chave: queijo de coalho, análise sensorial, temperatura de cozimento.

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the influence of the curd cooking temperature (40, 45 and 50°C) on the sensory acceptance and buying intent of the “queijo de coalho”. The test was applied using 101 non-trained judges who

evaluated the grilled cheeses after 34 days of refrigerated storage. The attributes analyzed were appearance, aroma, flavor, texture and buying intent. The cheese manufactured at a cooking temperature of 50°C stood out, since it showed the highest mean scores for all the sensory characteristics evaluated, and was the cheese preferred by the consumers.

Keywords: “queijo de coalho”, sensory evaluation, cooking temperature.

1. INTRODUÇÃO

O queijo de coalho é um queijo típico da região Nordeste do Brasil, consumido nesta região como queijo de mesa, ingrediente culinário ou grelhado. O produto tem se popularizado em outras regiões do Brasil e, no estado de São Paulo, o queijo de coalho tem sido comercializado na forma fracionada em espetos para churrasco, fabricados sempre a partir de leite pasteurizado e consumidos principalmente na forma grelhada. Os requerimentos do consumidor são que o queijo apresente baixa capacidade de derretimento e liberação de óleo e que desenvolva coloração característica amarronzada com o tempo de grelha. Outras características desejáveis são a textura elástica ou “borrachenta” e sabor de manteiga (Perez, 2005; Nassu et al., 2004)

Perez (2005) observou grande variação no processo de fabricação do queijo de coalho, permitida e favorecida pela legislação brasileira, que é muito abrangente e pouco definida (Brasil, 2001). O tratamento térmico do leite, a adição de fermento e o tipo de salga e de cozimento da massa foram as etapas do processamento de maior variação entre as indústrias produtoras de queijo de coalho. A temperatura de cozimento variou desde o não cozimento da massa até temperaturas de 40 a 50°C (Perez, 2005).

A variação nas condições de cozimento da massa durante a fabricação do queijo pode resultar em variações na composição, funcionalidade e características sensoriais do queijo de coalho. A temperatura de cozimento influencia a remoção

do soro da coalhada durante a fabricação do queijo. Diferenças na umidade têm impacto significativo na textura e podem afetar o sabor do queijo, pelo impacto na proteólise e produção de compostos de sabor. Entretanto, não é claro como essas variações na temperatura de cozimento podem influenciar a aceitação sensorial do queijo de coalho. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes temperaturas de cozimento da massa na aceitação sensorial de queijo de coalho grelhado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Fabricação do queijo de coalho

O leite utilizado como matéria-prima para o experimento foi proveniente de uma cooperativa local. Após a ordenha, o leite foi resfriado a 4°C e transportado para a Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA). A fabricação do queijo de coalho foi realizada na planta piloto do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), FEA - UNICAMP.

Em seguida, 400 litros de leite padronizado (caseína/gordura = $0,83 \pm 0,04$) foram submetidos à pasteurização, 72-73°C por 15 segundos, em trocador de calor a placas, resfriados a 4°C e armazenados em latões. 133 litros foram destinados para cada tanque de queijo.

Os queijos foram fabricados conforme apresentado na Figura 1, com variação da temperatura de cozimento da massa do queijo. O cozimento da massa foi realizado a 40°C (Q40), 45°C (Q45) e 50°C (Q50) . Após atingir a temperatura desejada (1°C/2min), a massa foi mantida por mais 10 minutos sob agitação e então, dessorada. Os queijos permaneceram a 4°C até a realização das análises.

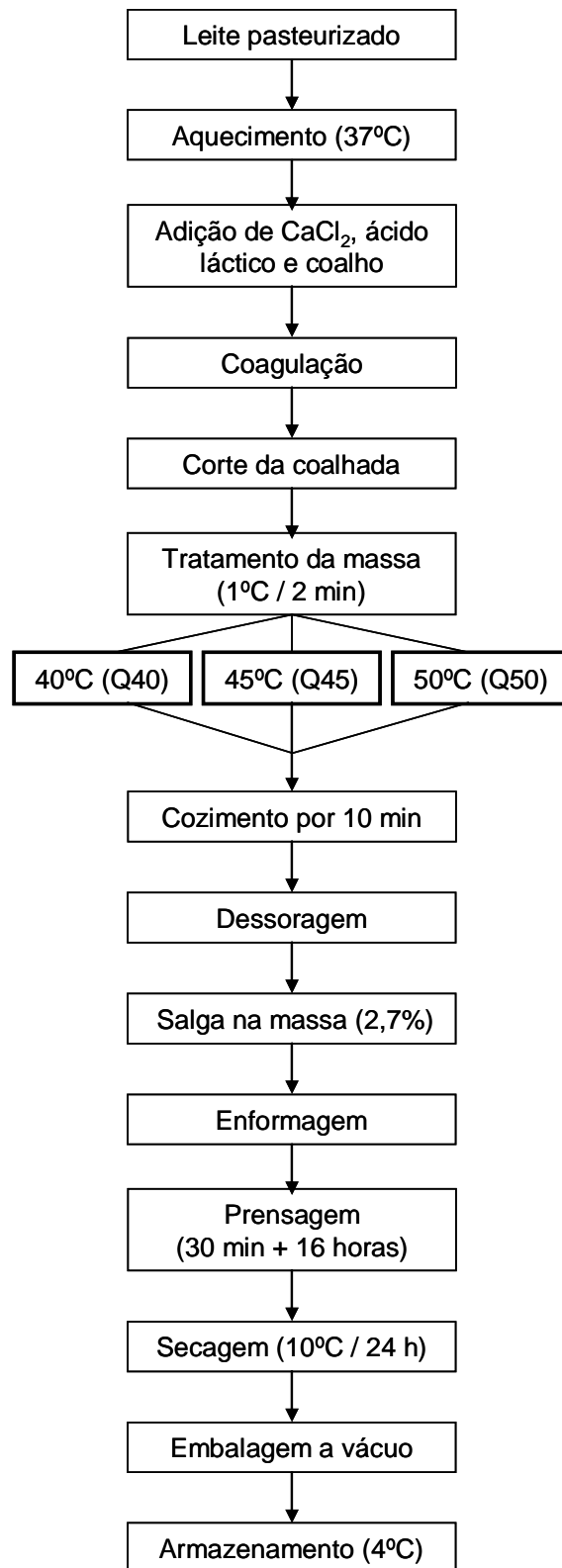


Figura 1. Fluxograma do processo de fabricação do queijo de coalho.

2.2. Composição do queijo

Para constituição de uma amostra representativa, um queijo foi aleatoriamente escolhido, cortado em cubos pequenos e triturado em multiprocessador até obtenção de partículas de 2-3 mm. O material, assim obtido, foi homogeneizado manualmente e acondicionado em frascos de vidro. As amostras foram mantidas sob refrigeração (4°C) até o momento das análises.

A composição dos queijos foi determinada 5 dias após o processamento. As análises realizadas foram pH (AOAC 935.17, 1995), acidez titulável (Marshall, 1992), extrato seco total (AOAC 925.23, 1995), gordura (Instituto Adolfo Lutz, 1985); nitrogênio total (AOAC 991.20, 1995) e sal (IDF, 1979).

Todas as determinações foram efetuadas em triplicata.

2.3. Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada no 34º dia de armazenamento refrigerado, aplicando um teste de aceitação a 101 provadores não treinados, no Laboratório de Análise Sensorial do DTA, FEA, Unicamp.

Os testes foram realizados em cabines individuais, sob luz branca e o queijo de coalho foi servido na forma grelhada, em cubos com aproximadamente 20g. As amostras foram apresentadas, uma a uma, controlando os efeitos de posição (“carry-over”), conforme proposto por Wakeling & Macfie (1995). Utilizou-se uma grelhadora elétrica, modelo Natura Grill da marca Cootherm, sendo que as amostras permaneceram aproximadamente 2 minutos na grelha; tempo necessário para atingirem uma coloração amarronzada característica. As amostras foram servidas acompanhadas de biscoito “cream cracker” e água mineral à temperatura ambiente, para remoção do sabor residual entre as amostras.

Utilizou-se escala hedônica estruturada mista de nove pontos (1 = desgostei extremamente; 5 = nem gostei / nem desgostei; 9 = gostei extremamente) para avaliar o produto quanto à aparência, aroma, sabor e textura (Stone & Sidel, 1993). Empregou-se escala hedônica de cinco pontos para a intenção de compra (1 = certamente não compraria; 3 = talvez comprasse / talvez não comprasse; 5 =

certamente compraria). Os provadores também foram solicitados a descreverem o que mais gostaram e menos gostaram em relação a cada atributo. A Ficha de Aceitação Sensorial do queijo de coalho grelhado utilizada pelos provadores está apresentada na Figura 2.

2.4. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi do tipo aleatorizado, em blocos. Os resultados da composição química e a aceitação sensorial dos queijos foram analisados através de Análise de Variância (ANOVA), utilizando-se o teste de Tukey para verificar diferenças entre as amostras, a partir do procedimento PROC ANOVA, do programa (SAS[®]). Os resultados da intenção de compra foram avaliados de forma gráfica, por histograma de barras.

Nome: _____ Data: _____ E-mail: _____

1- Você está recebendo uma amostra codificada de queijo de coalho grelhado. Por favor, inicialmente AVALIE o quanto você gostou ou desgostou da amostra, em relação à **APARÊNCIA** utilizando a escala abaixo:

9. Gostei extremamente
 8. Gostei muito
 7. Gostei moderadamente
 6. Gostei ligeiramente
 5. Nem gostei / nem desgostei
 4. Desgostei ligeiramente
 3. Desgostei moderadamente
 2. Desgostei muito
 1. Desgostei extremamente

Amostra: _____ VALOR: _____

Descreva o que você mais gostou e menos gostou em relação à **APARÊNCIA** da amostra

+ Gostei: _____

- Gostei: _____

2- Agora, CHEIRE a amostra e, utilizando a escala, indique o quanto você gostou ou desgostou da amostra, em relação ao **AROMA**

Amostra: _____ VALOR: _____

Descreva o que você mais gostou e menos gostou em relação ao **AROMA** da amostra

+ Gostei: _____

- Gostei: _____

3- Agora, PROVE a amostra e, utilizando a escala, indique o quanto você gostou ou desgostou da amostra, em relação ao **SABOR**

Amostra: _____ VALOR: _____

Descreva o que você mais gostou e menos gostou em relação ao **SABOR** da amostra

+ Gostei: _____

- Gostei: _____

4- Agora, PROVE novamente a amostra e, utilizando a escala, indique quanto você gostou ou desgostou da amostra, em relação à **TEXTURA** (p.ex.: grau de derretimento, maciez, etc)

Amostra: _____ VALOR: _____

Descreva o que você mais gostou e menos gostou em relação à **TEXTURA** da amostra

+ Gostei: _____

- Gostei: _____

5- Por favor, **INDIQUE COM UM CÍRCULO**, qual a sua **intenção de compra** em relação ao produto:

5. Eu certamente compraria este produto
 4. Eu provavelmente compraria este produto
 3. Tenho dúvidas se compraria ou não compraria este produto
 2. Eu provavelmente não compraria este produto
 1. Eu certamente não compraria este produto

Obrigada ☺

Figura 2. Ficha de aceitação aplicada aos provadores.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito da temperatura de cozimento da massa na composição do queijo

Na Tabela 1 são apresentados os resultados de composição dos queijos de coalho fabricados com diferentes temperaturas de cozimento da massa, após 5 dias de fabricação.

Tabela 1. Composição média dos queijos, elaborados com diferentes temperaturas de cozimento da massa, equivalentes a: 40°C (Q40), 45°C (Q45) e 50°C (Q50).

Componente	Tratamentos*		
	Q40	Q45	Q50
pH	6,62 ^b	6,62 ^b	6,66 ^a
Acidez (% ác. láctico)	0,14 ^a	0,13 ^{ab}	0,12 ^b
EST (%)	47,63 ^c	51,02 ^b	54,02 ^a
Umidade (%)	52,37 ^a	48,98 ^b	45,98 ^c
Gordura (%)	23,28 ^b	25,22 ^a	25,89 ^a
GBS (%)**	48,78 ^{ab}	49,39 ^a	48,00 ^b
Proteína (%)	18,36 ^c	20,21 ^b	21,60 ^a
PBS (%)***	38,55 ^b	39,61 ^a	39,99 ^a
Sal (%)	2,75 ^a	2,55 ^a	2,68 ^a
Sal/Umidade	5,25 ^b	5,21 ^b	5,83 ^a

*a,b,c – médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si (p<0,05); ** GBS (gordura em base seca); *** PBS (proteína em base seca).

O teor de umidade dos queijos está na faixa de 45,98 a 52,37%, sendo portanto classificados como queijos de alta umidade. Já o teor de gordura encontrado classifica o Q40 como sendo um queijo magro e os Q45 e Q50 como sendo semi-gordos, segundo apresentado no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (Brasil, 1996).

A temperatura de cozimento da massa dos queijos afetou significativamente a composição dos queijos, principalmente com relação ao teor de umidade e proteína. Quanto maior foi a temperatura de cozimento da massa, menor foi o teor de umidade e maior o teor de proteína.

Na fabricação de queijos, a temperatura de cozimento é usada para controlar a sinérese da coalhada e, portanto, a umidade do queijo. O aumento da temperatura durante o cozimento aumenta diretamente a velocidade de sinérese e o número das ligações hidrofóbicas, aumentando as interações proteína-proteína o que resulta em uma estrutura mais coesa e mais firme.

A temperatura de cozimento também afeta o crescimento e a sobrevivência dos microrganismos presentes no leite usado para a fabricação do queijo. Nesse caso, como não se adicionou fermento láctico, os microrganismos presentes foram os que sobreviveram à pasteurização ou contaminantes pós-pasteurização. Como pode ser visto na Tabela 1, houve diferença na acidez titulável dos queijos em função da temperatura de cozimento utilizada; queijos fabricados com temperatura de cozimento de 40°C apresentaram acidez maior que os fabricados a 50°C.

Variações na temperatura de cozimento também influenciam a capacidade tampão do queijo, como atestam os valores de pH dos queijos (Tabela 1). O aumento da temperatura aumenta a sinérese, reduz a umidade da coalhada e, portanto, diminui o teor de lactose, o que resulta em uma razão lactose/proteína menor e, conseqüentemente, maior capacidade tampão e queijos com pH mais elevado.

3.2. Avaliação sensorial

Na Tabela 2 estão apresentadas as médias de aceitação das características sensoriais avaliadas para os três tipos de queijo elaborados, no 34º dia de armazenamento.

Houve diferença significativa entre o Q50 e os outros tratamentos para os atributos aparência ($p=0,0001$), sabor ($p=0,0025$) e textura ($p=0,0021$), sendo o Q50 o queijo preferido pelos provadores. A maioria das notas ficaram entre os

pontos 7 e 8 da escala hedônica, que representa a descrição “gostei moderadamente” e “gostei muito”, respectivamente.

Tabela 2. Médias (n=101) obtidas para a aceitação de queijo de coalho grelhado.

Atributos	Tratamentos*		
	Q40	Q45	Q50
Aparência	6,91 ^b	7,10 ^b	7,61 ^a
Aroma	7,09 ^{ab}	6,94 ^b	7,49 ^a
Sabor	6,93 ^b	7,11 ^b	7,61 ^a
Textura	7,17 ^b	7,06 ^b	7,66 ^a

* a,b - médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

Analisando os dados da Tabela 3, verificou-se que o Q50 foi o queijo descrito positivamente, por maior número de provadores, pelas características de “aroma e sabor típicos” e textura “crocante”. O Q40 apresentou descrição negativa, em maior porcentagem, para “textura mole”, o que prejudicou a aceitação do queijo pelo consumidor, já que o queijo de coalho é caracterizado pela textura borrachenta e baixa capacidade de derretimento.

O Q40 e o Q45, por serem mais úmidos, apresentaram uma maior percepção do sal, mesmo não diferindo significativamente ($p < 0,05$) do teor de sal do Q50, avaliado na composição dos queijos. O gosto amargo também foi mais evidente nestes queijos, provavelmente pela maior atividade do coalho residual e/ou plasmina, facilitado pela alta umidade, resultando na quebra da caseína em peptídeos amargos. A ausência do fermento láctico e de suas enzimas para hidrolisar esses peptídeos pode tornar o gosto amargo um evento permanente.

A Figura 3 mostra que tanto o Q40 como o Q45 apresentaram menor intenção de compra, porém para todos os tratamentos as médias foram elevadas. Mais de 59% dos provadores certamente/provavelmente comprariam os três queijos avaliados, sendo que o Q50 atingiu valor máximo de 76,23% de aceitação. A temperatura de cozimento mais elevada resultou em um queijo com menor teor de umidade, e conseqüentemente apresentou menor derretimento e textura mais

firme e elástica. Comentários dos provadores a esse respeito confirmam ser essa a provável razão da maior aceitação sensorial e intenção de compra do queijo Q50.

Tabela 3. Características sensoriais que os provadores (n=101) mais gostaram (+) e menos gostaram (-) em relação aos atributos avaliados no queijo de coalho grelhado.

Atributo	Característica	Descrição	% respostas		
			Q40	Q45	Q50
APARÊNCIA	(+)	Cor típica	40	38	36
		Tostada	16	22	22
	(-)	Cor pálida	19	13	11
		Queimada	9	14	14
AROMA	(+)	Típico	21	29	41
		Suave	23	11	10
	(-)	Fraco	26	23	20
		Queimado	05	08	11
SABOR e/ou GOSTO	(+)	Típico	19	22	30
		Salgado	30	28	25
	(-)	Muito salgado	23	24	07
		Amargo	08	10	03
TEXTURA	(+)	Macia	45	48	48
		Crocante	05	06	12
	(-)	Borrachenta	17	19	21
		Mole	18	09	07

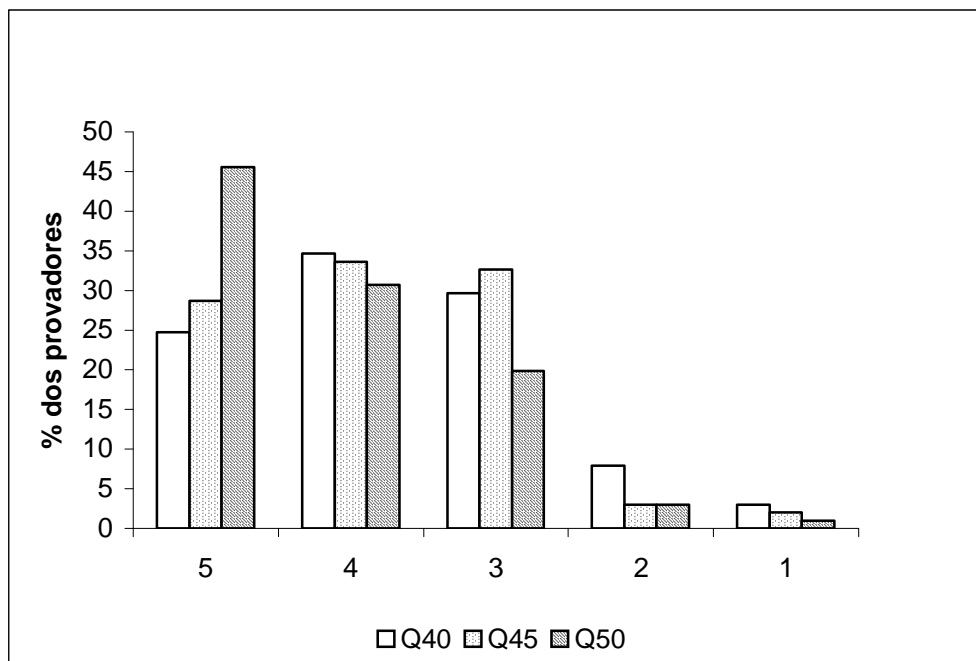


Figura 3. Histograma de intenção de compra do queijo de coalho grelhado (5=certamente compraria; 3=talvez comprasse / talvez não comprasse; 1=certamente não compraria).

4. CONCLUSÕES

A temperatura de cozimento afetou principalmente a umidade dos queijos, influenciando diretamente a textura. O queijo de coalho cozido a temperatura de 50°C foi o preferido pelos consumidores por apresentar melhor aparência, sabor e textura, assim como maior intenção de compra.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16.ed. Washington, 1995.

BRASIL. Instrução Normativa nº30 de 26 de junho de 2001. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de manteiga da terra, queijo de coalho e queijo de manteiga. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 de julho de 2001.

BRASIL. Portaria nº 146 de 7 de março de 1996. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 de março de 1996.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. D.B. Rebocho ed. São Paulo, 1985.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Determination of the total solids content of cheese and processed cheese**. IDF-FIL., n.88, p.1-3, 1979.

MARSHALL, R.T. Standard methods for the examination of dairy products. 16 ed., Washington, DC: **American Public Health Association**, 546p, 1992.

NASSU, R.T.; SILVA, M.A.A.P.; VIOTTO, W.H. Variações sensoriais em queijo de Coalho artesanal e industrial consumido em Fortaleza, Ceará. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Anais do XIX CBCTA**, Recife, p.4, 2004.

PEREZ, R.M. **Perfil sensorial, físico-químico e funcional de queijo de coalho comercializado no município de Campinas**, SP. Campinas, 2005. 140p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press, 1993. 308p.

WAKELING, I.N.; MACFIE, H.J. Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of k samples from t may be tested. **Food Quality and Preference**, v.6, p.299-308, 1995.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONCLUSÃO GERAL

- O aumento da temperatura de cozimento da massa resultou em aumento da sinérese, redução da umidade, aumento da proteína, afetando a profundidade da proteólise e a dureza dos queijos. Houve queda do pH, aumento da proteólise e diminuição da elasticidade, ao longo do armazenamento refrigerado. Após o derretimento, os queijos apresentaram aumento da coloração amarronzada, que é característico no queijo de coalho grelhado.
- A etapa de cozimento da massa favoreceu o desenvolvimento de *Enterococcus* e bactérias lácticas. Porém, este crescimento não foi afetado pela variação da temperatura de cozimento de 40 até 50°C. Com o tempo de armazenamento refrigerado dos queijos de coalho, o número de enterococos e a produção de diacetil/acetoína aumentaram significativamente. Os resultados obtidos mostram que a produção de diacetil/acetoína, e o consequente sabor e aroma de manteiga no queijo de coalho, pode estar associada ao desenvolvimento de bactérias do gênero *Enterococcus*.
- Na avaliação sensorial, o queijo de coalho grelhado submetido ao cozimento da massa mais elevado (50°C), foi o preferido pelos provadores e apresentou maior intenção de compra.